Novas tecnologias aplicadas à Engenharia Biomédica

Progresso e perspectivas na Engenharia de tecidos

ORGANIZADORES

ANA CRISTINA FIGUEIREDO DE MELO COSTA
ADRIANO LIMA DA SILVA
ALUSKA DO NASCIMENTO SIMÕES BRAGA
ELVIA LEAL
DANYELLE GARCIA GUEDES
HELDER DE LUCENA PEREIRA

Editora Poisson

2
VOLUME

Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Adriano Lima da Silva
Aluska do Nascimento Simões Braga
Elvia Leal
Danyelle Garcia Guedes
Helder de Lucena Pereira
Organizadores

Novas tecnologias aplicadas à Engenharia Biomédica:

Progresso e perspectivas na Engenharia de tecidos

Volume 2

1ª Edição

Belo Horizonte

Editora Poisson

2025

Editor Chefe: Dr. Darly Fernando Andrade

Conselho Editorial

Dr. Antônio Artur de Souza – Universidade Federal de Minas Gerais
Ms. Davilson Eduardo Andrade
Dra. Elizângela de Jesus Oliveira – Universidade Federal do Amazonas
MSc. Fabiane dos Santos
Dr. José Eduardo Ferreira Lopes – Universidade Federal de Uberlândia
Dr. Otaviano Francisco Neves – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Dr. Luiz Cláudio de Lima – Universidade FUMEC
Dr. Nelson Ferreira Filho – Faculdades Kennedy
MSc. Valdiney Alves de Oliveira – Universidade Federal de Uberlândia

Revisão Textual

Dr. Adriano Lima da Silva
Dra. Aluska do Nascimento Simões Braga
Dra. Elvia Leal
MSc. Danyelle Garcia Guedes
MSc. Helder de Lucena Pereira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

N936
Novas tecnologias aplicadas à engenharia biomédica: progresso e perspectivas na Engenharia de tecidos Volume 2/ Organização: Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa et al. - Belo Horizonte – MG: Poisson, 2025

Formato: PDF
ISBN: 978-65-5866-499-4
DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4

Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia

1. Engenharia 2. Educação I. COSTA, Ana Cristina Figueiredo de Melo; II. *et al.* III. Título.

CDD-620

Sônia Márcia Soares de Moura – CRB 6/1896

O conteúdo deste livro está licenciado sob a Licença de Atribuição Creative Commons 4.0.
Com ela é permitido compartilhar o livro, devendo ser dado o devido crédito, não podendo ser utilizado para fins comerciais e nem ser alterada.

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores. Esse e outros títulos podem ser baixados gratuitamente em www.poisson.com.br.

Organizadores

Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Doutora em Ciência dos Materiais pela UFSCar em 2002 e Professora Titular do curso de Engenharia de Materiais desde 2018. Desde então, atua no desenvolvimento de novos materiais via química sintética, atividades relacionadas à nanotecnologia e desenvolvimento de materiais para aplicação em eletroeletrônica, catálise, materiais magnéticos, ópticos, nanocompósitos, biomateriais, membranas cerâmicas, absorvedores de radiação eletromagnética, marcadores biológicos e dispositivos magnéticos leves. Tem experiência em síntese e caracterização de materiais, desenvolvimento de nanomateriais por síntese química, especificamente por reação de combustão. A profa. é pesquisadora PQ 1D CNPq e coordenada o Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos, onde encontra-se instalada a planta piloto por reação de combustão com capacidade de produção 200g/bateladas de nanomateriais. Participa ativamente como membro permanente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (conceito CAPES 6). Atua também na formação de recursos humanos, participando ativamente dos programas de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq; PIBIT/CNPq e PIVIC/UFG. Possui parcerias consolidadas com instituições nacionais: USP, UFSC, UFBA, UFBA, UFV, UFRJ, UEPB, UFPB, UFRN, UNIFEI, UFAL, ITA, IEaV e IpQM. Internacionalmente, possui parceria com o Professor Shepherd Tichapondwa, Ph.D. e Dr. Antonio Benjamim Mapossa ambos Universidade de Pretoria), PrEng da África do Sul do Departamento de química. Colaboração com empresas: JHS Biomaterias; Bentonit União Nordest Industria e Comércio Ltda e Empresa Fuji S. A.. Atua como revisora de periódicos internacionais no Journal of the European Ceramic Society, American Ceramic Society, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Journal of Alloys and Compounds, Journal of Materials of Science, Ceramica International, Ceramic Magazine, Materials Research e em periódicos nacionais Revista Matter, Ceramics, Electronic Journal on Process Engineering, Brazilian Journal of Vacuum Application, Polymers Magazine, entre outros.

Adriano Lima da Silva

Possui Graduação em Engenharia de Materiais (UFCG, 2016), Especialista em Engenharia da Qualidade (FUNIP, 2019), Especialista em Educação de Jovens e Adultos (IFRO, 2022), Mestre e Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais (UFCG, 2022), Universidade Federal de Campina Grande - UFCG (Conceito 6 CAPES) e Químico Licenciado pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Bolsista de Pós-doutorado Júnior - PDJ (CNPq) / Pesquisador e Membro Atuante do Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos - LabSMac/UFCG, Desenvolvendo Pesquisas no Âmbito de Catalisadores Cerâmicos Magnéticos e não Magnéticos Avançados para Obtenção de Biodiesel, Tem experiência em sintese química por reação de combustão bem como atua na área de engenharia de materiais e metalúrgica, com ênfase em materiais Cerâmicos, bem como participação em trabalhos com materiais Poliméricos.

Aluska do Nascimento Simões Braga

Possui Graduação em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande (2009), Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande (2011), Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande (2014). Atualmente é professora da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande. Atuando em pesquisas principalmente na área de síntese química de materiais nanométricos através do método sol-gel e método Pechini, processamento e caracterização de materiais cerâmicos, nanotecnologia e biocerâmicas.

Organizadores

Elvia Leal

Possui Graduação em Engenharia de Materiais com Ênfase no Setor de Petróleo e Gás (2006) pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em parceria com a Agência Nacional do Petróleo (ANP), Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais (2009) pela UFCG também em parceria com a ANP, Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais (2013) pela UFCG e Pós-Doutorado pelo PNPD da CAPES (2013-2016) na área de materiais magnéticos híbridos e de biomateriais. Possui Especialização em Engenharia e Segurança do Trabalho (2014-2016) pela Faculdade Anglo-Americano de Campina Grande. E um segundo Pós-Doutorado pelo PNPD/CAPES/UFCG (2017-2021) na área de síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas, desenvolvimento de materiais compósitos destinados ao uso como absorvedores eletromagnéticos. Além disso, possui experiência nos temas: tecnologias aplicadas aos nanomateriais, síntese de pós cerâmicos (óxidos metálicos) pelo método da reação por combustão, desenvolvimento de catalisadores para as tecnologias de produção do biodiesel e técnicas de caracterização de materiais.

Danyelle Garcia Guedes

Engenheira de Materiais graduada pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), com formação técnica em Informática pelo Instituto Federal da Paraíba (IFPB) e especialização em Docência no Ensino Superior pela Faculdade Campos Elíseos. Atualmente, é mestra e doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEMat, UFCG), desenvolvendo pesquisas na área de nanomateriais para aplicações biomédicas.

Helder de Lucena Pereira

Engenheiro de Minas graduado pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no ano de 2016. Experiência em pesquisa experimental na área de meio ambiente (Aproveitamento de Resíduo Mineral), desenvolvida no Laboratório de Físico-Química, pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia de Minas da UFCG. Experiência no estudo da Mineração em Pequena Escala (MPE), desenvolvido no âmbito do Arranjo Produtivo Local de pegmatitos RN/PB, ambas vinculadas ao Programa Entidades Associadas MCTI/UFCG/CETEM. Licenciado em Química pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) no ano de 2024, com experiência em iniciação à docência (2020-2022), projetos de extensão científica (CTSA e CTS-Arte pela Inclusão, 2022-2023) e monitoria voluntária em Química Experimental (2024.1 e 2024.2). Engenheiro de Segurança pós-graduado pelo Centro Universitário de Patos (UNIFIP) no ano de 2018. Especialista em Educação de Jovens e Adultos (EJA) pelo Instituto Federal de Rondônia (IFRO) no ano de 2023. Especialista em Docência para a Educação Profissional e Tecnológica (DocentEPT) pelo Instituto Federal do Tocantins (IFTO) no ano de 2023. Especialista em Ensino de Ciências da Natureza e Matemática pelo Instituto Federal do Sertão de Pernambuco (IFSertãoPE) no ano de 2024. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) no ano de 2023, atuando na área de pesquisa de Catálise heterogênea para produção de biodiesel no Laboratório de Caracterização, Catálise e Biocombustível (LACCBIO), pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia Química da UFCG. Atualmente doutorando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPG-CEMat, Conceito CAPES 6), atuando na área de pesquisa de desenvolvimento de nanomateriais por síntese química para produção de biodiesel no Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC), pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da UFCG. Atua como consultor Ad Hoc no Programa Institucional de Projetos e Bolsas de Extensão pelo Instituto Federal do Sertão de Pernambuco (PIPBEX/IFSertãoPE), participa do Conselho-técnico científico dos periódicos Revista Brasileira de Educação Profissional e Tecnológica e Holos, ambos publicados digitalmente e editados pelo Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN).

Prefácio

É com grande satisfação que apresentamos o segundo volume da obra *"**Novas Tecnologias Aplicadas à Engenharia Biomédica: Progresso e Perspectivas na Engenharia de Tecidos**"*, dando continuidade aos esforços iniciados no primeiro volume, *"**Novas Tecnologias Aplicadas à Engenharia Biomédica: Uma Contribuição à Engenharia de Tecidos**"*. Neste novo livro, organizado por mestres e doutores com ampla experiência na área, mantemos o compromisso de explorar e discutir as inovações que impulsionam o campo da engenharia de materiais com ênfase na biomédica, destacando o progresso recente e as perspectivas futuras da engenharia de tecidos.

Desde a publicação do primeiro volume, observamos um crescimento exponencial nas pesquisas e aplicações práticas dentro desse fascinante campo interdisciplinar. Novos materiais, técnicas avançadas de biofabricação, métodos computacionais e descobertas em biologia celular e molecular têm expandido os horizontes da engenharia de tecidos, trazendo soluções que outrora pareciam impossíveis. Esses avanços não apenas fortalecem as bases científicas da área, mas também oferecem alternativas promissoras para desafios clínicos, como a regeneração de tecidos danificados, o desenvolvimento de órgãos bioartificiais e a personalização de terapias.

Enquanto o primeiro volume lançou as bases conceituais e abordou algumas das tecnologias emergentes, este segundo volume busca aprofundar a análise de temas relevantes, incluindo a aplicação de biomateriais de última geração, avanços no uso de inteligência artificial e modelagem computacional, e novas abordagens para bioimpressão e microfabricação. Além disso, apresentamos casos de sucesso e estudos de aplicabilidade clínica, evidenciando o impacto real dessas tecnologias no cenário da saúde global.

A engenharia biomédica é, por excelência, uma área de convergência de conhecimentos. Neste contexto, a colaboração entre engenheiros, biólogos, médicos e outros profissionais é fundamental para a materialização de inovações disruptivas. Este livro reflete essa natureza multidisciplinar, reunindo contribuições de pesquisadores de diferentes áreas do saber, cujas experiências enriquecem e ampliam o alcance desta obra.

Ao longo dos 11 capítulos, buscamos não apenas destacar os avanços científicos e tecnológicos, mas também encorajar a reflexão crítica sobre os desafios éticos, regulatórios e de implementação enfrentados por esse campo. Afinal, à medida que desenvolvemos tecnologias mais sofisticadas, torna-se indispensável ponderar sobre sua acessibilidade, segurança e impacto na sociedade.

Convidamos o leitor a explorar as páginas deste volume como uma fonte de inspiração, atualização, reflexão e referência. Que esta obra possa estimular novas ideias, fomentar colaborações e fortalecer a construção de um futuro no qual a engenharia biomédica continue a transformar vidas e superar fronteiras.

Agradecemos imensamente aos autores, revisores e colaboradores que tornaram possível a realização deste livro, assim como aos leitores que compartilham conosco o entusiasmo por esta área tão promissora.

Os Organizadores

SUMÁRIO

Capítulo 1: Obtenção de filmes poliméricos: propriedades físico-químicas e aplicações na indústria farmacêutica 09

Gabryella Garcia Guedes, Ana Beatriz Almeida de Sousa Silva, Analara Cordeiro de Macedo, Kamilla Virgínio da Silva Nascimento, Jonas Lira do Nascimento, Kaline de Araújo Medeiros, Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.01

Capítulo 2: Aplicações de quitosana, ferrita de cobre e extrato da casca de romã: perspectivas na regeneração tecidual e tratamento de feridas..... 26

Meirilany Rozeno Costa, Dayanne Tomaz Casimiro da Silva, Elvia Leal, Luciano do Nascimento, José Adeilton de Carvalho Filho, Giovane Santos Duarte, Ester Oliveira Campos, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.02

Capítulo 3: Spirulina: uma promissora alternativa natural com múltiplas aplicações biomédicas 50

Gleydis Manalig Pereira Dantas, Iuri Laurindo de Oliveira, Danyelle Garcia Guedes, Meirilany Rozeno Costa, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.03

Capítulo 4: Uma breve revisão sobre a dopagem de beta fosfato tricálcico (β−TCP) com ferro (Fe)..... 63

Diógenes de Moura Júnior, Ycaro Breno Alves de Almeida, José Rosa de Souza Farias, Valdeci Bosco dos Santos, Veruska do Nascimento Simões, Aluska do Nascimento Simões Braga

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.04

Capítulo 5: *Scaffolds* antimicrobiano magnéticos a base de carvacrol para regeneração de tecido ósseo: uma revisão da literatura..... 82

Hermano de Vasconcelos Pina, Danyelle Garcia Guedes, Jessé de Oliveira da Silva, Andreza Josiany Aires de Farias, Matheus Ferreira de Sousa, Renate Maria Ramos Wellen, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, Marcelo Jorge Cavalcanti De Sá

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.05

Capítulo 6: Síntese de hidroxiapatita por reação de combustão 100

Renally Gomes Araujo, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, Ana Flávia Félix Farias

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.06

SUMÁRIO

Capítulo 7: Síntese verde de nanopartículas à base de $CoFe_2O_4$ e sua atividade antibacteriana 131

Érica Karine Alves de Lima, Pedro Afonso Amorim de Sousa, Elaine Ferreira dos Santos Fernandes, Ketelly Estefane da Silva Alves, Aluska do Nascimento Simões Braga, Valdeci Bosco dos Santos

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.07

Capítulo 8: Uso da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ para aplicação como biomaterial 151

Luciano Nascimento, Danyelle Garcia Guedes, Elvia Leal, José Adeilton de Carvalho Filho, Gleydis Manalig Pereira Dantas, Meirilany Rozeno Costa, Adriano Lima da Silva, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.08

Capítulo 9: Desenvolvimento de hidrogel de quitosana reticulado com genipina para liberação controlada de vancomicina 170

Fábio Gondim Nepomuceno, Danyelle Garcia Guedes, Adriano Lima da Silva, Pascally Maria Aparecida Guerra Araújo, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.09

Capítulo 10: Avaliação de compósitos de hidroxiapatita e nanopartículas de ferrita de cobalto para o uso como sistemas de liberação controlada de fármaco 194

Cristiane Carneiro Vital Cintra, Gabriela C L Evangelista, Emily Correna Carlo Reis, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, Andrea Pacheco Batista Borges

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.10

Capítulo 11: Desenvolvimento de *scaffolds* magnéticos de quitosana e ferrita de cobalto com aplicação potencial na engenharia de tecidos 218

Danyelle Garcia Guedes, Gabryella Garcia Guedes, Jessé de Oliveira da Silva, Helder de Lucena Pereira, Hermano de Vasconcelos Pina, Adriano Lima da Silva, Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

DOI: 10.36229/978-65-5866-499-4.CAP.11

Capítulo 1

Obtenção de filmes poliméricos: propriedades físico-químicas e aplicações na indústria farmacêutica

Gabryella Garcia Guedes
Ana Beatriz Almeida de Sousa Silva
Analara Cordeiro de Macedo
Kamilla Virgínio da Silva Nascimento
Jonas Lira do Nascimento
Kaline de Araújo Medeiros
Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

Resumo: O desenvolvimento de filmes poliméricos tem sido amplamente estudado, especialmente na área da saúde, devido ao seu potencial em criar formas farmacêuticas inovadoras. Esses filmes permitem a incorporação de insumos farmacêuticos ativos e, conforme o polímero utilizado, podem apresentar propriedades físico-químicas fundamentais, como permeabilidade, solubilidade, resistência mecânica e biocompatibilidade, aspectos essenciais para suas diversas aplicações. Por exemplo, filmes com alta barreira à umidade são indispensáveis para proteger fármacos sensíveis, enquanto aqueles com propriedades controladas de liberação podem aumentar a eficácia terapêutica. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura abordando as características, aplicações e técnicas de desenvolvimento de filmes poliméricos aplicáveis à indústria farmacêutica. A pesquisa foi realizada nas principais bases de dados, utilizando os descritores: filmes poliméricos, polímeros, sistema de liberação, fármacos e aplicações. Os polímeros mais utilizados foram quitosana, PVA, polietilenoglicol, celulose e as aplicações abrangeram principalmente formulações com a finalidade de curativo. Dessa maneira, é evidenciado que a combinação de técnicas de produção e o entendimento aprofundado das propriedades físico-químicas desses filmes são essenciais para inovar e otimizar produtos farmacêuticos, garantindo maior eficácia e segurança nos tratamentos, beneficiando a saúde dos pacientes.

Palavras-chaves: Biomateriais. Formulações inovadoras. Carreamento. Fármacos.

1. INTRODUÇÃO

Polímeros e biopolímeros são excipientes comumente usados em sistemas de liberação, e a utilização desses excipientes em novas formulações que supram necessidades não atendidas é cada vez mais recorrente. Dentre os múltiplos sistemas de entrega, os filmes possuem várias funcionalidades, podendo ser utilizados em diferentes tipos de administração, seja ela tópica ou sistêmica. Eles são caracterizados por serem matrizes poliméricas complexas, com ou sem plastificantes, sendo sistemas biodegradáveis e, funcionando como uma matriz para o encapsulamento de nanoemulsões, nanopartículas e hidrogéis (Borges *et al.*, 2024).

A possibilidade de múltiplas aplicações dos filmes poliméricos despertou o interesse da indústria farmacêutica e cosmética, pois são sistemas capazes de reduzir a frequência de administração de substâncias ativas e curativas. Os filmes poliméricos caracterizam-se, normalmente, pelas suas propriedades mecânicas, elásticas e flexíveis, que atribuem uma melhor biodisponibilidade ao sistema. Compostos a base de polissacarídeos dentre eles, quitosana, alginato, amidos, gomas e derivados da celulose são comumente utilizados em sua produção pelo seu custo benefício. Além disso, esses componentes atribuem ao sistema biocompatibilidade e baixa toxicidade (Alves *et al.*, 2024).

Além da biocompatibilidade de atoxicidade, transparência e flexibilidade são características físicas que os filmes poliméricos apresentam devido, principalmente, a utilização de biopolímeros em sua composição. Alguns exemplos de polímeros naturais usados na fabricação de filmes poliméricos são: quitosana, ácido hialurônico, amido, queratina, gelatina, colágeno e zeína. Embora atribuam vantagens ao sistema, os biopolímeros podem sofrer contaminação de microrganismos e terem propriedades físicas, como flexibilidade, inferiores quando comparados aos filmes fabricados com polímeros sintéticos (Borbolla-Jiménez *et al.*, 2023).

Polímeros sintéticos com caráter hidrofílico, propriedades mucoadesivas e gelificantes são amplamente utilizados na preparação de filmes, polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG) e álcool polivinílico (PVA) são exemplos de polímeros sintéticos comumente utilizados. Além da composição polimérica, esses sistemas possuem componentes que auxiliam em suas propriedades físico-químicas, como os plastificantes, que melhoram propriedades mecânicas, resistência e tração, os mais comuns são gliceróis, citrato de trietila e tributila. A depender do uso e dos processos de fabricação, no geral, tais componentes têm o papel principal de melhorar o uso dos filmes poliméricos em diferentes vias de administração (Murueva *et al.*, 2024).

A associação de biopolímeros ou de polímeros sintéticos, plastificantes e surfactantes almejam melhorar as qualidades dos filmes a fim de aumentar a sua compatibilidade, com isso, diferentes métodos de preparação têm sido estudados e implementados. Dentre os principais processos, destacam-se método de evaporação de solvente, eletrofiação, eletropulverização, extrusão de fusão a quente, fundição de soluções e bioimpressão 3D. Embora cada método de produção apresente desafios de produção e de aplicabilidade os filmes poliméricos, mostram-se como capazes de transformar a administração de medicamentos em diferentes vias de administração (Riccio *et al.*, 2022).

Nessa perspectiva, o presente trabalho tem como objetivo oferecer um levantamento bibliográfico sobre as variadas aplicações e possibilidades de desenvolvimento dos filmes poliméricos, além de expor o impacto de sua utilização para

a indústria farmacêutica, visto que são sistemas versáteis e com uma ampla gama de produção e aplicabilidade.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho constitui uma revisão bibliográfica. A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados Periódicos CAPES, *Science Direct*, *Scielo* e *PubMed.* Foram utilizados os seguintes termos de busca, tanto em língua vernácula quanto em inglês, combinados com auxílio dos operadores booleanos "and" ou "or": filmes poliméricos, polímeros, sistema de liberação, fármacos, aplicações. Um total de 18 artigos originais publicados em língua inglesa e portuguesa no período de 2019 a 2024 foram selecionados. Essa seleção foi baseada em critérios de inclusão, que abrangiam: i) Artigos publicados em língua inglesa, nos últimos cinco anos; ii) estudos de pesquisa e revisão; iii) pesquisas comparativas entre diferentes técnicas de obtenção de filmes poliméricos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

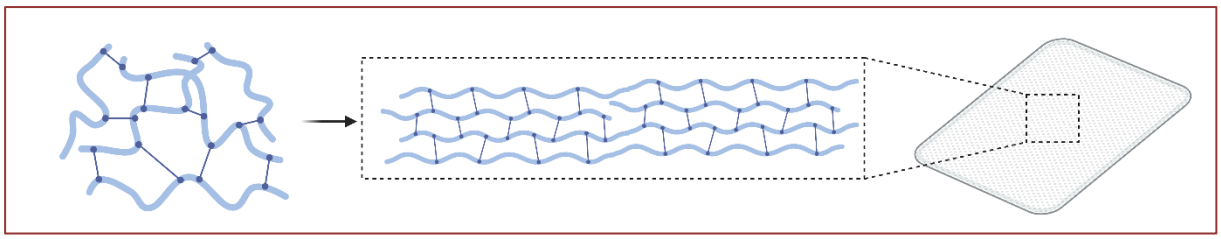
3.1. TIPOS DE POLÍMEROS USADOS

A combinação e seleção adequada de diferentes polímeros, permite potencializar a cinética de liberação dos sistemas de transporte de fármacos tópicos, sua biocompatibilidade e propriedades físicas, como reológicas e mecânicas, contribuindo para o aumento da eficácia terapêutica. Por isso, os filmes poliméricos são considerados inovadores em comparação às formas farmacêuticas convencionais, a presença de polímeros pode atribuir ao sistema a capacidade de promover a liberação sustentada de um fármaco e reduzir a perda do mesmo, além de atribuir conforto e adesão ao paciente (Rosseto *et al.*, 2024).

Dentre os excipientes, os polímeros caracterizam-se como um dos mais importantes e fundamentais na formulação de um filme. Entre os polímeros utilizados alguns possuem características hidrofílicas ou hidrofóbicas, dependendo das suas propriedades e de grupos funcionais específicos. Essas características, atribuem, também, aos filmes um caráter hidrofílico ou hidrofóbico, fundamentais no direcionamento do seu uso e no seu tipo de ação. Os filmes com caráter hidrofílico, por exemplo, têm baixa resistência à água e menor substantividade, podendo não aderir a pele de forma duradoura, em contrapartida os filmes hidrofóbicos têm maior resistência a água e, aderem melhor à pele, sendo capazes de atingir camadas mais internas e de liberar o fármaco de maneira controlada (Qin *et al.*, 2024).

As interações entre polímeros e excipientes podem variar desde forças de van der Waals até interações intermoleculares mais fracas, como ligações de hidrogênio, interações iônicas e interações hidrofóbicas. Polímeros como etilcelulose e hidroxipropilcelulose resultam em filmes porosos, cuja morfologia influencia a permeabilidade e o perfil de liberação do fármaco. A organização estrutural desses polímeros é capaz de formar redes complexas como é observada na figura 1, que ao serem combinadas com pequenos compostos ativos, promovem a organização macromolecular e garantem continuidade estrutural e coesão ao filme (Benbettaïeb *et al.*, 2020).

Figura 1 - Cadeia polimérica.



Com base nas propriedades específicas como solubilidade, biocompatibilidade e reticulação. Entre os mais comumente utilizados estão polímeros naturais e sintéticos como etilcelulose, polivinil pirrolidona, álcool polivinílico, quitosana, polimetacrilatos. Esses polímeros, combinados ou utilizados individualmente, permitem ajustar as características dos filmes de acordo com as necessidades de liberação controlada do sistema de entrega e da molécula associada (Nyamweya, 2021).

A estrutura supramolecular dos polímeros influência nas propriedades do filme resultante, esse tipo de estrutura baseia-se em ligações covalentes entre as unidades repetitivas de polímeros, e também incluem forças de ligações de hidrogênio, interações π-π, interações eletrostáticas e forças de Van der Waals. Além da influência estrutural, polímeros termoresponsivos possuem capacidade de adaptabilidade, ou seja, respondem a mudanças de temperatura permitindo a formação de filmes poliméricos com propriedades ajustáveis, como permeabilidade e solubilidade (Anzhela *et al.*, 2021).

A maioria dos polímeros utilizados em sistemas de liberação controlada, dentre eles, os filmes, devem atender a demandas como a conformidade com a matriz extracelular, serem biocompatíveis, não tóxicos e imunologicamente inertes. Dessa maneira, dentre a diversidade de polímeros formadores de filme estão o PLGA (ácido lático-co-glicólico), poliuretano (PU), Polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG), quitosana, Policaprolactona (PCL), carboximetilcelulose recebem especial atenção, uma vez que atendem à grande parte das demandas requeridas por materiais médicos (Gull *et al.*, 2023).

Materiais biodegradáveis e biocompatíveis, como a quitosana, possuem boa interação com diferentes moléculas, especialmente aquelas que respondem a variações ambientais, como pH e temperatura. A miscibilidade dos materiais na mistura é um fator essencial para a formação de filmes eficientes, exigindo que o polímero apresente boa solubilidade em solventes orgânicos homogêneos e não tóxicos, que interajam minimamente com as biomoléculas incorporadas. Essas interações entre o polímero e a biomolécula devem ser cuidadosamente ajustadas, permitindo a liberação controlada e predeterminada das biomoléculas, mantendo a eficácia terapêutica sem comprometer a integridade estrutural do filme (Van Riel *et al.*, 2024).

A produção de filmes com polímeros naturais confere atraentes características estruturais, tornando-os atraentes para aplicações em liberação controlada de fármacos, os polímeros vegetais formam redes tridimensionais, como a pectina e a celulose, que melhoram as propriedades mecânicas dos filmes. A pectina além de ser biodegradável e possuir baixo custo, pode aprisionar fármacos e auxiliar na liberação controlada de fármacos, facilitando a modulação da liberação em ambientes fisiológicos e proporcionado flexibilidade e elasticidade ao sistema (Dalimunthe *et al.*, 2024).

A eficácia da incorporação polimérica, seja ela no aprisionamento e liberação de moléculas ou na estrutura dos filmes, depende de características específicas de composição e estrutura de cada polímero, alguns, embora possuam boas propriedades biológicas, não possuem, por exemplo, capacidade de atribuir características físicas desejáveis ao sistema. O álcool polivinílico (PVA), possui atributos notáveis, como solubilidade em água, durabilidade e biocompatibilidade (El-Naggar *et al.*, 2024).

Outros polímeros sintéticos, como a carboximetilcelulose (CMC) também desempenha um papel essencial na produção de filmes, possuem forte estabilidade mecânica e são utilizados como agentes floculantes, emulsificantes, agente espessante, agente de retenção de água e, a principal utilidade substância formadora de filme. Especialmente para moléculas hidrofóbicas e em formulações de Nanoemulsões incorporadas nesses filmes, suas propriedades anfifílicas, permitem interações versáteis com superfícies carregadas, polares e não polares dentro da estrutura polimérica, essencial para sua atuação como agente umectante. O CMC não apenas facilita a solubilização de diferentes fármacos, mas também contribui para a integridade mecânica do sistema (Švára *et al.*, 2023).

Os materiais biocompativeis e biodegradáveis como poli(laprolactona) (PCL), poli(ácido láctico) (PLA), poli(lactídeoco-cglicolídeo) (PLGA), poli(ortoésteres), poli(cianoacrilatos de alquilo) e poli(anidridos), poli(amidas) polissacarídeos (amido, dextrano, quitosana), gelatina, colagénio, ácido hialurônico, é um fator determinante na funcionalidade e eficácia dos filmes poliméricos. A correta interação entre os polímeros e excipientes é essencial para a produção de filmes estáveis, que têm a capacidade de proteger o princípio ativo e assegurar sua liberação controlada em condições ideais, ajustando-se a diversas necessidades terapêuticas e ambientes. Assim, selecionar o polímero apropriado não apenas preserva a integridade do filme, mas também maximiza a eficácia do tratamento (Murueva *et al.*, 2024).

Quadro 1 – Polímeros mais empregados na produção de Filmes

Polímeros Naturais	
Celulose	Abundante na natureza, possui caráter rígido e é capaz de formar uma rede polimérica densa e compacta. Permite a incorporação de diferentes moléculas de fármacos devido à sua grande área superficial.
Gelatina	Polímero biodegradável, capaz de produzir filmes, nanopartículas, micropartículas e hidrogéis. A gelatina forma filmes com alta porosidade e biocompatibilidade.
Goma Gelana	Expolissacarídeo produzido pela fermentação de bactérias. É um material biocompatível e atóxico, além de possuir propriedades gelificantes e mucoadesivas.
Pectina	Polissacarídeo vegetal com alta solubilidade, sendo capaz de formar sistemas estáveis em meio ácido, é considerada um promissor transportador de medicamentos.
Alginato de sódio	Polímero aniônico natural, biocompatível, biodegradável e não tóxico. Os filmes de alginato são resistentes, têm alta absorção de líquido e são mucoadesivos.

Quadro 1 – Polímeros mais empregados na produção de Filmes (continuação)

Polímeros semissintéticos	
Quitosana	Obtido pela desacetilação da quitina. A quitosana é amplamente utilizada em sistemas controlados de liberação de fármacos, devido às propriedades atóxicas, antialérgicas, anticoagulantes e antioxidantes.
Polímeros Sintéticos	
Polietilenoglicol (PEG)	Polímero hidrofílico, biodegradável e biocompatível. É comumente utilizado em sistemas de liberação controlada, cicatrização de feridas e na medicina regenerativa.
Álcool polivinílico (PVA)	Polímero semicristalino rico em grupos hidroxila, atribuindo ao PVA boa solubilidade em água. Os filmes de PVA têm propriedades atraentes, são transparentes, têm boa flexibilidade e boa resistência.
Polivinilpirrolidona (PVP)	Polímero sintético que é comumente utilizado como agente estabilizador em emulsões e suspensões. é inodoro, incolor, mucoadesivo e resistente a variações de temperatura e pH.

3.2. PROPRIEDADES FÍSICAS

A compreensão sobre as propriedades físicas dos materiais poliméricos surge como significativas ao ponto que justificam o conhecimento que governa a estabilidade e a dinâmica do processo de obtenção dos sistemas confinados. A medida que existem diferenças nas espessuras de filmes produzidos a partir de bases poliméricas, flexibilidade e resistência são parâmetros diretamente afetados, tendo em vista que estes se aproximam ou se distanciam da escala de comprimento característica das moléculas individuais dos polímeros, interferindo diretamente as propriedades físicas dos filmes, devido às alterações de efeitos das moléculas aprisionadas e as interações em razão a existência de diferentes interfaces presentes no sistema (Giermanska *et al.*, 2021).

Características como flexibilidade e a resistência de filmes poliméricos são consideradas e avaliadas em relação às diversas aplicações farmacêuticas dos sistemas que formam os filmes poliméricos. Carvalho *et al.*, 2023, realizaram estudos através da obtenção de filmes transmucosos poliméricos para veiculação de medicamentos em superfícies mucosas, como bucal, nasal e vaginal, com liberação controlada e de maior adesão aos tecidos, observando-se que quando comparados a outras formas farmacêuticas, os filmes poliméricos são mais finos, flexíveis e, consequentemente, mais confortáveis, além de possibilitar que a formulação seja ajustada ao tamanho desejado. Foi também percebido por Vecchi e colaboradores que filmes bioadesivos à base de polivinilpirrolidona (PVP) e polivinilálcool (PVA) ao serem acrescidos de um terceiro polímero, o poloxamer 407, apresentaram mudanças nas suas características físico-químicas permitindo uma maior flexibilidade ao filme formado, ao mesmo tempo que aumentou sua resistência mecânica, demonstrando que o comportamento mecânico é importante para o desenvolvimento e aplicação de sistemas mucoadesivos.

Dentre todos os processos físicos que norteiam a obtenção de filmes poliméricos, com características adequadas, a depender da sua finalidade de aplicação, vale ressaltar que a inserção de adjuvantes específicos pode auxiliar nesse processo de formulação. Os plastificantes, como o glicerol, polietilenoglicol (PEG-400) e o sorbitol, podem potencializar significativamente as propriedades mecânicas e de permeabilidade, através

do enfraquecimento das forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, formando novas ligações de hidrogênio entre os polímeros, melhorando a mobilidade das cadeias. Assim, permite que os filmes ultrapassem características de fragilidade e sejam providos de flexibilidade, elasticidade e resistência desejáveis, favorecendo as diferentes aplicações na indústria farmacêutica (Yang Sun *et al.*, 2020).

A análise das propriedades físicas dos filmes aos quais envolvem as bases poliméricas representam a importância das caracterizações dos componentes, tendo em vista as imensas características físicas e mecânicas desses sistemas, de modo que agregam resposta na sua utilidade e na sua aplicação em diferentes âmbitos da indústria farmacêutica (Udayakumar *et al.*, 2021).

3.3. PROPRIEDADES QUÍMICAS

Materiais poliméricos, em sua maioria são caracterizados por serem seguros e biocompatíveis, possuindo vantagem por serem estáveis sob condições normais de processamento e armazenamento. Quando aplicados a forma de filmes poliméricos, estes preservam as características intrínsecas dos polímeros, que, no entanto, podem passar por modificações químicas, gerando interações intermoleculares, as quais podem impactar diretamente nas propriedades finais, de forma desejável ou não, a depender da finalidade ao qual o filme será direcionado (Abilova *et al.*, 2019).

Além disso, a adição de mais de um polímero à formulação pode ser relevante para a obtenção e atividade satisfatória do filme, tendo em vista as interações químicas funcionais das moléculas. Tal característica foi observada em estudos de Abilova e colaboradores (2019), onde foram desenvolvidos filmes poliméricos com a mistura de quitosana e poli (2-etil-2-oxazolina) por fundição a partir de soluções aquosas e mediante as caracterizações, observou-se uma fraca ligação de hidrogênio intermacromolecular entre esses polímeros, o que facilitou sua miscibilidade completa no estado sólido, estabelecendo filmes biocompatíveis e mucoadesivos, com capacidade liberação prolongada.

Um outro fator influenciador na característica química, de estabilidade e na interação entre os componentes da formulação, como por exemplo com o fármaco utilizado, dá-se pelo tipo de solvente empregado. Cetindag *et al*. (2020), observaram que utilizando um fármaco pouco solúvel em água, a seleção do polímero e do sistema de solvente influenciou diretamente as características de qualidade do filme, incluindo a recristalização do fármaco, uniformidade de distribuição do princípio ativo, propriedades mecânicas, velocidade de dissolução, grau de supersaturação e a estabilidade durante o armazenamento. Fouladiano *et al*. (2020) também analisaram a influência do polímero na liberação controlada de docetaxel através de filmes poliméricos. Especificamente, as interações entre o docetaxel e o poliuretano demonstraram modular a liberação do fármaco, proporcionando uma liberação quase linear ao longo de 30 dias, acompanhada por uma redução significativa nos produtos de degradação, demonstrando que os filmes de poliuretano contendo o fármaco detém forte potencial para candidatos a stents liberadores de medicamentos.

Toda a análise das propriedades químicas, que impactam diretamente na estabilidade, interação e atividade das formulações, surgem como pontos importantes de verificação, tendo em vista, a busca por melhores resultados nas desvantagens que as propriedades inerentes de alguns fármacos apresentam, quando inseridas em um sistema

polimérico. Assim, processos que direcionam o aumento das interações especiais entre medicamentos e polímeros, como por exemplo, as ligações de hidrogênio, iônicas, e interações dipolo-dipolo, como também a ocupação de locais de ligação fármaco-fármaco e a redução da mobilidade molecular dos sistemas proporcionam uma melhor abordagem e obtenção de um sistema polimérico eficaz (Quan *et al.*, 2019).

3.4. PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Os sistemas de administração de medicamentos (DDS) são preferidos ao uso direto de substâncias ativas (APIs) por diversas razões práticas e de segurança. Devido à alta potência de alguns medicamentos, a dosagem precisa ser difícil de manipular, principalmente em medicamentos de baixa dosagem, tornando o uso de excipientes essencial para estabilizar a formulação. Além disso, em algumas vias de administração, como na cavidade retal e vaginal, o IFA pode ser degradado ou causar irritação devido à sua alta concentração no local de aplicação. A adição de excipientes é essencial para aumentar a estabilidade, melhorar a biodisponibilidade, mascarar sabores e garantir uma dosagem precisa e segura, promover a adesão do paciente e facilitar o processo de fabricação (Adepu; Ramakrishna, 2021).

3.5. PROCESSOS DE PRODUÇÃO

No desenvolvimento de filmes poliméricos é possível selecionar dentre algumas metodologias a que mais se adequa às necessidades de produção, se relacione com o polímero utilizado e os equipamentos disponíveis. Dentre as técnicas de produção é possível elencar algumas que vão viabilizar uma espessura e possibilidade de veicular fármacos que serão liberados quando a formulação estiver em contato com a área alvo.

3.5.1. EXTRUSÃO

A extrusão de filme é amplamente utilizada na produção de materiais flexíveis devido à sua eficiência e versatilidade. No processo, o polímero é fundido em temperaturas controladas e forçado através de uma matriz para formar um filme contínuo. Após a extrusão, o material passa por um processo de resfriamento e é enrolado para posterior uso ou transformação. Esse método é especialmente eficiente para polímeros semicristalinos, como polietileno de baixa densidade (LDPE) e polipropileno (PP), que apresentam boas propriedades mecânicas e térmicas. Esses materiais são amplamente utilizados em embalagens alimentícias devido à sua baixa permeabilidade a gases e alta resistência a impactos (Smith *et al.*, 2021).

A técnica de extrusão pode ser adaptada para diferentes aplicações, dependendo do tipo de matriz utilizado. A extrusão tubular, por exemplo, é amplamente usada para a produção de filmes soprados, onde o polímero extrudado é inflado com ar para formar um tubo que posteriormente é transformado em filmes ou sacos plásticos. Esse processo oferece controle preciso da espessura do filme e permite a fabricação de materiais com propriedades mecânicas isotrópicas (Brown; Jones, 2020).

Além disso, avanços tecnológicos têm permitido a utilização de polímeros biodegradáveis no processo de extrusão, como poli(ácido lático) (PLA) e poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT). Esses materiais são alternativas sustentáveis ao polietileno e polipropileno em aplicações de embalagens. Estudos mostram que a

modificação das condições de extrusão, como temperatura e velocidade de rotação do parafuso, pode melhorar a processabilidade e as propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis (Fernandes *et al*., 2023).

A extrusão também é utilizada na fabricação de filmes multicamadas, que combinam diferentes tipos de polímeros para alcançar propriedades específicas, como barreira ao oxigênio, resistência mecânica e transparência. Essa técnica permite a utilização eficiente de materiais e a customização do filme de acordo com as necessidades da aplicação, sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica (Garcia *et al*., 2022).

Outro ponto relevante é o uso de aditivos durante o processo de extrusão, como plastificantes e estabilizantes térmicos, que podem melhorar a flexibilidade, a estabilidade térmica e a durabilidade do filme. A incorporação de nanopartículas também tem sido investigada para conferir propriedades antimicrobianas e aumentar a resistência mecânica dos filmes, ampliando suas aplicações em áreas como embalagens ativas e dispositivos médicos (Rodrigues *et al*., 2023).

3.5.2. EVAPORAÇÃO DE SOLVENTE

O método de evaporação do solvente, do inglês “casting”, no qual é preparado uma solução polimérica que é então acondicionada em moldes e posta para secagem em estufa para que ocorra a evaporação do solvente e dessa maneira filme poliméricos são obtidos, nesta técnica é possível controlar a espessura do filme, sendo uma metodologia disseminada na aplicação de estudos de embalagens inteligentes e de formulações curativas, como os filmes de quitosana e acetato de celulose.

3.6. DESEMPENHO E EFICÁCIA

Para ser considerado eficaz, um curativo deve ser capaz de atender a certos requisitos, como ser atóxico, ter simples aplicação, esterilidade, atividade antibacteriana, não aderência, capacidade de troca gasosa, e absorção adequada de exsudato (Sheokand *et al.*, 2023). A maioria dos curativos disponíveis comercialmente hoje em dia consegue atender a alguns desses requisitos, mas não a todos, além de apresentar desvantagens. A gaze, por exemplo, pode aderir e interromper o processo de cicatrização (Minsart *et al.*, 2022), além disso, a necessidade de limpar a ferida e aplicar a medicação mais de uma vez ao dia aumenta o sofrimento do paciente e retarda o processo de cicatrização. Os alginatos também se apresentam como opção, mas embora seja um material semipermeável, o curativo de alginato não é capaz de impedir a permeação de bactérias na ferida, dependendo apenas de sua capacidade antibiótica inerente, além de exigir um curativo secundário (Hodge *et al.*, 2022). Já os curativos de hidrogel proporcionam um ambiente de hidratação ideal para a cicatrização, são biocompatíveis, e aplicados de forma eficaz como sistema de liberação controlada de medicamentos, mas o acúmulo de fluidos pode levar à maceração da pele, aumentando a fragilidade da pele ao redor da ferida (Minsart *et al.*, 2022). Os hidrocolóides atuam através da formação de uma fase gelificada ao entrar em contato com a superfície da ferida, o que ajuda a umedecer a ferida e proteger o tecido de granulação devido à absorção do exsudato pelo material do curativo. Infelizmente, eles não podem ser usados em feridas com exsudato abundante ou em feridas que já estão infectadas, e podem aderir à superfície da ferida, tornando-se difíceis de remover (Brumberg *et al.*, 2021; Jahromi *et al.*, 2018).

Os filmes poliméricos, por outro lado, são capazes de cumprir esses requisitos, pois são flexíveis, fáceis de aplicar, permitem evaporação de umidade, e fornecem uma barreira à contaminação externa (Savencu, 2021). Além disso, são bio compatíveis, e aqueles produzidos com polímeros naturais podem imitar sistemas biológicos, reduzindo o risco de reações imunológicas (Schulte-Werning, 2021). Os filmes produzidos por Balasubramaniam (2020) (PVA/Quitosana/Ácido Ferúlico), Soubhagya (2020) (Quitosana/Pectina/Zinco), e Leng (2020) (Cúrcuma/PVA/Colágeno) apresentaram atividade antibacteriana em ensaio de difusão em ágar contra E. coli e S. aureus, boa migração celular na avaliação da cicatrização in vitro (e ensaio in vivo de cicatrização de feridas em camundongos), e ausência de toxicidade em ensaio MTT. Além disso, Shah (2019) (Quitosana/Prata/Sericina/Moxifloxacino) e Costa (2020) (PVA/Amido/Poli ácido acrílico/Extrato de romã) mostraram boa capacidade de intumescimento e eliminação de vapor de água. Esses ensaios provam que os filmes poliméricos são capazes de absorver exsudato, evitar maceração, dificultar e tratar possíveis infecções por bactérias sem aderir à ferida, sem necessidade de trocas recorrentes, e sem necessidade de utilização de um filme secundário.

Quadro 2 – Desvantangens dos tipos de curativo.

Curativo	Desvantagens	Pode ser contornado usando filmes
Gaze	Pode aderir à ferida	Não há relatos de adesão
Hidrogel	Pode levar à maceração da pele	Boa eliminação de vapor de água
Alginatos	Requer curativo secundário	Os filmes eliminam a necessidade de um curativo secundário
Hidrocolóides	Não podem ser usados em feridas com exsudato	Alta capacidade de intumescimento e absorção de exsudato.

Fonte: Autores, 2025.

3.7. IMPORTÂNCIA NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA.

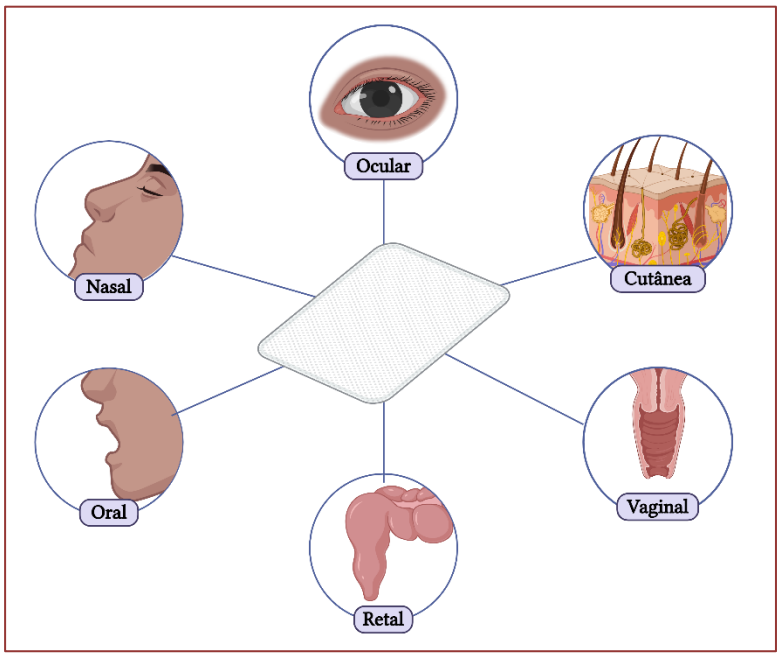
A incorporação de polímeros em sistemas de liberação de fármacos proporciona o desenvolvimento de diferentes formulações. O principal objetivo da administração de medicamentos, seja ela oral, oftalmológica, em cicatrização de feridas ou odontológica é entregar o medicamento na concentração apropriada ao local alvo, a formação de um sistema de filme polimérico oferece diferentes vantagens para esse objetivo, os filmes possuem capacidade de carregar diferentes moléculas e, ainda liberá-las de maneira controlada. Por isso, a indústria farmacêutica e cosmética vem investindo na utilização desses sistemas (Park *et al.*, 2018).

A associação dos componentes de um filme atribui ao sistema propriedades funcionalidade, além de otimizar a estrutura alguns polímeros aumentam a funcionalidade local de medicamentos, favorecendo a incorporação e liberação de moléculas com diferentes características. Quando comparados aos sistemas convencionais, os filmes poliméricos oferecem vantagens como aumento e melhora da capacidade de absorção do medicamento na pele, melhora da biodisponibilidade fazendo com que mais de um ativo seja transferido de maneira controlada e direcionada. Essas

características atribuem melhores resultados terapêuticos e diminuição no custo de produção (Boehler; Oberueber; Asplund, 2019).

Embora a administração oral de medicamentos ainda tenha uma maior adesão e direcionamento de investimentos, devido ao baixo custo, facilidade de administração e alto nível de adesão do paciente, ela apresenta barreiras significativas ao tratamento como metabolismo hepático de primeira passagem e degradação do fármaco no trato gastrointestinal. Em contrapartida os filmes mostram-se como finos, flexíveis e menos intrusivos, favorecendo a adesão do paciente a esse sistema, além disso, a capacidade de aplicabilidade em vias oftalmológicas, orais, vaginais, nasal e retal (Figura 2) oferecem vantagens a esse tipo de sistema para a administração de medicamentos, pois torna possível o desvio do efeito de primeira passagem e da eliminação pré-sistêmica no trato gastrintestinal, apresentando a capacidade de reduzir efeitos colaterais, além de melhorar o início da ação do medicamento (Litauszki *et al.*, 2022).

Figura 2 - Aplicações dos filmes poliméricos no corpo humano



Entre as diferentes vias, o uso de filmes por via bucal, sublingual, ocular e cutânea têm atraído maior interesse. O direcionamento de cada formulação atribui determinadas funcionalidades ao tratamento, como por exemplo, a utilização de filmes em sistemas de liberação oftálmicos é desenvolvida, principalmente, para superar as barreiras oculares e evitar a perca de medicamentos através do canal lacrimal. A composição substancial do sistema polimérico, permite a modificação de taxa de liberação de medicamentos, propriedades mucoadesivas e resistência mecânica. Além disso a adição de componentes como plastificantes, agentes estimulantes, corantes e adoçantes podem melhorar a palatabilidade e a estética do sistema, favorecendo a aceitabilidade do tratamento (Abramov; Garti, 2021).

Quadro 3 - Utilização e Aplicação de Filmes Poliméricos na Indústria Farmacêutica

Aplicação	Polímero utilizado	Função	Vantagens
Liberação controlada de fármacos	Eudragit RS, Ethylcellulose	Controla a taxa de liberação do medicamento	Prolonga o efeito terapêutico, reduz a frequência de dosagem
Revestimento de Comprimidos	Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)	Protege o fármaco de condições adversas	Estabilidade química, mascaramento de sabor
Películas Mucoadesivas	Poliacrilatos, Quitosana	Prolonga a permanência na área de aplicação	Aumenta a eficácia em aplicações tópicas ou orais
Nanopartículas e Microencapsulação	Ácido Polilático (PLA), Poliglicólico (PGA)	Encapsula agentes ativos	Proteção do fármaco, liberação controlada

3.8. CLASSIFICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

A classificação dos filmes poliméricos tem sido amplamente estudada devido à sua relevância na indústria biomédica, farmacêutica e de embalagens. Nos últimos anos, os avanços tecnológicos focaram em inovações na fabricação e aplicação desses materiais, considerando fatores como biodegradabilidade, características mecânicas, funcionais e métodos de produção.

Nesse sentindo, os filmes poliméricos podem ser classificados de diversas formas, por exemplo, quanto a origem, os polímeros podem ser agrupados em: naturais ou sintéticos. Os polímeros naturais como zeína, pectina e quitosana, são derivados de fontes biológicas e têm se destacado pelo seu potencial biodegradável e biocompatível, sendo amplamente utilizados na indústria biomédica (Drago *et al.*, 2023; Fiorentini *et al.*, 2021). Esses polímeros também podem ser combinados, por exemplo, uma pesquisa desenvolveu filmes à base de alginato e pectina, explorando sua capacidade de formar filmes com maior resistência e flexibilidade (Van Rooyen *et al.*, 2023). Por outro lado, os polímeros sintéticos, como os poliésteres, poliuretanos e polímeros condutores eletrônicos, são desenvolvidos através de processos químicos e apresentam maior resistência mecânica, rigidez, elasticidade, menor capacidade de degradação biológica e produção em larga escala (Asadi *et al*, 2020). Filmes de PLA, por exemplo, foram utilizados em embalagens de alimentos com a finalidade de promover maior sustentabilidade (D'Adamo *et al.*, 2020).

Outro fator importante na classificação de filmes poliméricos é o caráter de biodegradabilidade. Filmes biodegradáveis, como os feitos de polihidroxibutirato (PHB) (Rech *et al*, 2020), policaprolactona (PCL) (Bujok *et al.*, 2021) e ácido polilático (PLA) (Sadeghi; Razavi; Shahrampour, 2022), têm ganhado destaque nas indústrias farmacêutica e de embalagens sustentáveis. Gupta *et al.*, 2022, investigaram a aplicação de filmes de PCL em dispositivos de liberação controlada de fármacos, demonstrando sua eficiência no ambiente biológico e sua capacidade de degradação no organismo (Alimohammadi *et al.*, 2022). Em contrapartida, filmes não biodegradáveis, como polietileno (PE) (Hong; Wang; Rhim, 2022) são mais duráveis e resistentes, mas acumulam-se no meio ambiente, sendo desafiadores em termos de descarte sustentável, por isso cada vez mais estão sendo desenvolvidas outras alternativas (Zeng *et al.*, 2024).

Ademais, os filmes também podem ser categorizados em filmes poliméricos monocamadas e multicamadas, que se diferencia pela complexidade estrutural do material. Filmes monocamadas são compostos por uma única camada de polímero, sendo mais simples e geralmente aplicados em revestimentos finos (Liu *et al*, 2021). Já os filmes multicamadas, que são compostos por duas ou mais camadas de diferentes polímeros, oferecem maior resistência mecânica e barreiras a gases, sendo muito utilizados em embalagens de alimentos (Trinh; Chang; Mekonnen, 2021). Segundo Nassr *et al.*, 2023, a utilização de recursos de fabricação de filmes em multicamadas, por exemplo, de polietileno/alumínio é eficiente para melhorar a qualidade de embalagens de alimentos.

Outrosssim, os filmes também podem ser classificados em filmes ativos que são aqueles que interagem com o ambiente, como os que possuem propriedades antimicrobianas ou antioxidantes. Roy; Rhim, 2022, por exemplo, desenvolveram filmes ativos com nanopartículas de prata, que podem ser aplicados no setor alimentício para prevenir a contaminação microbiológica. Já os filmes funcionais, por outro lado, podem incluir propriedades como condutividade elétrica ou resposta a estímulos ambientais, como temperatura e pH, por exemplo, Khan *et al.*, 2023 investigaram a caracterização e aplicação de filme fino de óxido de zinco nanocompósito / álcool polivinílico na melhoria do desempenho de células solares, tornando-se promissores para a indústria.

Por fim, os filmes poliméricos também podem ser baseados em hidrogéis que representa uma categoria relevante, especialmente na área biomédica. Esses filmes são altamente hidratados e têm a capacidade de reter grandes quantidades de água, o que os torna ideais para aplicações como curativos e liberação de medicamentos, por exemplo, Chaudhary *et al.*, 2020, desenvolveram filmes com polímeros derivados de algas marinhas que é a carboximetilagarose (CMA) associado ao álcool polivinílico (PVA) com propriedades de hidrogel, mostrando capacidade de acelerar a cicatrização de feridas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, foi possível concluir que os filmes poliméricos, devido às suas propriedades físicas, químicas e farmacocinéticas, têm se destacado como uma alternativa promissora para diversas aplicações na indústria farmacêutica. A estabilidade química e a capacidade de promover uma liberação ajustada de princípios ativos demonstram a versatilidade desses materiais. Polímeros naturais, como quitosana, alginato e celulose, bem como polímeros sintéticos, como PCL, PVA e PLA, são amplamente utilizados no desenvolvimento desses sistemas, muitas vezes combinados para otimizar as propriedades desejadas. Além disso, as técnicas de produção têm evoluído para atender às exigências de performance e eficácia desse tipo de sistema, principalmente quando comparados a outros tipos de formulações de curativos. A liberação controlada, a biocompatibilidade e a resistência mecânica fazem dos filmes poliméricos uma opção eficaz para melhorar os tratamentos e o bem-estar dos pacientes.

No entanto, ainda são necessárias pesquisas mais aprofundadas, principalmente em relação à estabilidade de longo prazo, segurança e eficácia em modelos experimentais. Tais estudos são cruciais para superar as barreiras que limitam a ampla comercialização e implementação desses sistemas na indústria farmacêutica e biomédica. Portanto, a contínua inovação e investigação nesta área são fundamentais para garantir o desenvolvimento de produtos mais seguros e eficazes, promovendo o avanço tecnológico e terapêutico.

REFERÊNCIAS

[1] ABILOVA, Guzel *et al*. Chitosan/poly(2-ethyl-2-oxazoline) films for ocular drug delivery: Formulation, miscibility, in vitro and in vivo studies. **European Polymer Journal**, v. 116, p. 311-320, 2019.

[2] ABRAMOV, E.; GARTI, N. Development of polymeric films embedded with liquid nanodomains. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 591, p. 363–372, 2021.

[3] ADEPU, S.; RAMAKRISHNA, S. Controlled drug delivery systems: current status and future directions. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5905, 2021.

[4] ALIMOHAMMADI, M. *et al*. Controlled release of azithromycin from polycaprolactone/chitosan nanofibrous membranes. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 71, p. 103246, 2022.

[5] ALVES, F. M. S. *et al*. Aloe vera Miller extract as a plasticizer agent to polymeric films: A structural and functional component. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 99, p. 105982, 2024.

[6] ANZHELA, S. *et al*. The impact of polymers' supramolecular structure on water vapour sorption and drug release from films on the basis of some polysaccharide. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, 2021.

[7] ASADI, N. *et al*. Common biocompatible polymeric materials for tissue engineering and regenerative medicine. **Materials Chemistry and Physics**, v. 242, p. 122528, 2020.

[8] BALASUBRAMANIAM, M. P. *et al*. Synthesis of chitosan-ferulic acid conjugated poly (vinyl alcohol) polymer film for an improved wound healing. **Materials Today Communications**, v. 25, p. 101510, 2020.

[9] BENBETTAÏEB, N. *et al*. Modeling of the release kinetics of phenolic acids embedded in gelatin/chitosan bioactive-packaging films: Influence of both water activity and viscosity of the food simulant on the film structure and antioxidant activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 780–794, 2020.

[10] BOEHLER, C.; OBERUEBER, F.; ASPLUND, M. Tuning drug delivery from conducting polymer films for accurately controlled release of charged molecules. **Journal of Controlled Release**, v. 304, p. 173–180, 2019.

[11] BORBOLLA-JIMÉNEZ, F. V. *et al*. Films for Wound Healing Fabricated Using a Solvent Casting Technique. **Pharmaceutics Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, v. 15, n. 7, p. 1914, 2023.

[12] BORGES, Joyce Cordeiro *et al*. Incorporation of essential oils in polymeric films for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 132108, 2024.

[13] BROWN, T.; JONES, P. Blown film extrusion: principles and applications. **Polymer Processing Review**, v. 34, n. 4, p. 512-526, 2020.

[14] BRUMBERG, V. *et al*. Modern Wound Dressings: Hydrogel Dressings. **Biomedicines**, v. 9, n. 9, p. 1235, 2021.

[15] BUJOK, S. *et al*. Sustainable microwave synthesis of biodegradable active packaging films based on polycaprolactone and layered ZnO nanoparticles. **Polymer Degradation and Stability**, v. 190, p. 109625, 2021.

[16] CARVALHO, A. C. W. *et al*. The Potential of Films as Transmucosal Drug Delivery Systems. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 11, p. 2583, 2023.

[17] CETINDAG, E. *et al*. Effect of solvents and cellulosic polymers on quality attributes of films loaded with a poorly water-soluble drug. **Carbohydrate polymers**, v. 250, p. 117012, 2020.

[18] CHAUDHARY, J. P. *et al*. Carboxymethylagarose-based multifunctional hydrogel with super stretchable, self-healable having film and fiber forming properties. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1661-1668, 2020.

[19] COSTA, N. N. *et al*. Polymeric films containing pomegranate peel extract based on PVA/starch/PAA blends for use as wound dressing: In vitro analysis and physicochemical evaluation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 109, p. 110643, 2020.

[20] D'ADAMO, I. *et al*. A socio-economic indicator for EoL strategies for bio-based products. **Ecological Economics**, v. 178, p. 106794, 2020.

[21] DALIMUNTHE, Nisaul Fadilah *et al*. Pectin-carbonate hydroxyapatite composite films as a potential drug delivery system for cinnamaldehyde: Characterization and release kinetics modeling. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 10, p. 100905, 2024.

[22] DRAGO, E. *et al*. Improvement of natural polymeric films properties by blend formulation for sustainable active food packaging. **Polymers**, v. 15, n. 9, p. 2231, 2023.

[23] EL-NAGGAR, A. A. M. *et al*. Exploring the optical and electrical features of PVA/CMC/PPy/MWCNTs blended polymers. **Optical Materials**, v. 155, p. 115878, 2024.

[24] FERNANDES, M. E.; ALMEIDA, R. L.; SOUZA, P. F. Processing and characterization of biodegradable films by extrusion. **Green Polymer Science**, v. 28, n. 3, p. 340-350, 2023.

[25] FIORENTINI, F. *et al*. Plant-based biocomposite films as potential antibacterial patches for skin wound healing. **European Polymer Journal**, v. 150, p. 110414, 2021.

[26] FOULADIANO, P. *et al*. Influence of Polymer Composition on the Controlled Release of Docetaxel: A Comparison of Non-Degradable Polymer Films for Oesophageal Drug-Eluting Stents. **Pharmaceutics**, v. 12, p. 444, 2020.

[27] GARCIA, C.; PEREIRA, M.; OLIVEIRA, L. Multilayer polymer films for packaging applications: a review. **Packaging Technology and Science**, v. 35, n. 2, p. 210-225, 2022.

[28] GIERMANSKA, J. *et al*. Direct experimental evidences of the density variation of ultrathin polymer films with thickness. **Polymer**, v. 228, p. 123934, 2021.

[29] GULL, N. *et al*. Polymer blends for drug release systems. **Frontiers in Materials**, v. 9, p. 1059009, 2022.

[30] HODGE, J. G. *et al*. Evaluating polymeric biomaterials to improve next generation wound dressing design. **Biomaterials Research**, v. 26, n. 1, p. 50, 2022.

[31] HONG, S.I.; WANG, L.F.; RHIM, J.W. Preparation and characterization of nanoclays-incorporated polyethylene/thermoplastic starch composite films with antimicrobial activity. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 31, p. 100784, 2022.

[32] JAHROMI, M. A. M. *et al*. Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing. **Advanced drug delivery reviews**, v. 123, p. 33-64, 2018.

[33] KHAN, S. A. *et al*. Characterization and application of nano-composite zinc oxide/poly vinyl alcohol thin-film in solar cell performance enhancement. **Journal of Mechanical Science and Technology**, v. 37, n. 10, p. 5055-5065, 2023.

[34] LENG, Q. *et al*. Nanopartículas de curcumina incorporadas em filmes compostos de PVA/colágeno promovem a cicatrização de feridas. **Drug Delivery**, v. 27, n. 1, p. 1676–1685, 2020.

[35] LITAUSZKI, K. *et al*. Controlled Drug Release from Laser Treated Polymeric Carrier. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 111, n. 12, p. 3297-3303, 2022.

[36] LIU, L. *et al*. Grain-boundary-rich polycrystalline monolayer WS2 film for attomolar-level Hg2+ sensors. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 3870, 2021.

[37] MINSART, Manon *et al*. Commercial wound dressings for the treatment of exuding wounds: an in-depth physico-chemical comparative study. **Burns & Trauma**, v. 10, 2022.

[38] MURUEVA, A. V. *et al*. Biodegradable polymer casting films for drug delivery and cell culture. **Giant**, v. 19, p. 100314, 2024.

[39] NASSR, M. *et al*. An adhesion improvement of low-density polyethylene to aluminum through modification with functionalized polymers. **Polymers**, v. 15, n. 4, p. 916, 2023.

[40] NYAMWEYA, N. N. Applications of polymer blends in drug delivery. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, 2021.

[41] PARK, S. *et al*. Layer-by-layer assembled polymeric thin films as prospective drug delivery carriers: design and applications. **Biomaterials research**, v. 22, n. 1, p. 29, 2018.

[42] QIN, M. et al. Developing a synergistic rate-retarding polymeric implant for controlling monoclonal antibody delivery in minimally invasive glaucoma surgery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 272, 2024.

[43] QUAN, Peng et al. Dicarboxylic acid as a linker to improve the content of amorphous drug in drug-in-polymer film: Effects of molecular mobility, electrical conductivity and intermolecular interactions. **Journal of Controlled Release**, v. 317, p. 142-153, 2020.

[44] RECH, C. R. et al. Biodegradation of eugenol-loaded polyhydroxybutyrate films in different soil types. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100014, 2020.

[45] RICCIO, B. V. F. et al. Exploiting polymeric films as a multipurpose drug delivery system: a review. **AAPS PharmSciTech**, v. 23, n. 7, p. 269, 2022.

[46] RODRIGUES, A. S.; MARTINS, C. R.; TEIXEIRA, J. R. Nanoparticle-reinforced polymer films for antimicrobial packaging. **Advanced Materials Interfaces**, v. 10, n. 5, p. 1345-1356, 2023.

[47] ROSSETO, H. C. et al. Effect of propolis and polymer content on mechanical, bioadhesive and biological properties of nanostructured film forming platforms for topical drug delivery. **Journal of Molecular Liquids**, v. 395, p. 123878, 2024.

[48] ROY, S.; RHIM, J.W. Starch/agar-based functional films integrated with enoki mushroom-mediated silver nanoparticles for active packaging applications. **Food Bioscience**, v. 49, p. 101867, 2022.

[49] SADEGHI, A. et al. Fabrication and characterization of biodegradable active films with modified morphology based on polycaprolactone-polylactic acid-green tea extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, p. 341-356, 2022.

[50] SAVENCU, I. et al. Review of advances in polymeric wound dressing films. **Reactive and Functional Polymers**, v. 168, p. 105059, 2021.

[51] SCHULTE-WERNING, L. V. et al. Multifunctional Nanofibrous Dressing with Antimicrobial and Anti-Inflammatory Properties Prepared by Needle-Free Electrospinning. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1527, 2021.

[52] SHAH, A. et al. The wound healing and antibacterial potential of triple-component nanocomposite (chitosan-silver-sericin) films loaded with moxifloxacin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 564, p. 22–38, 2019.

[53] SHEOKAND, B. et al. Natural polymers used in the dressing materials for wound healing: Past, present and future. **Journal of Polymer Science**, v. 61, ed. 14, p. 1389-1414, 2023.

[54] SMITH, J.; DOE, R.; LEE, K. Advances in polymer film extrusion technologies. **Journal of Polymer Engineering**, v. 45, n. 6, p. 1023-1035, 2021.

[55] SOUBHAGYA, A. S. et al. Preparation and characterization of chitosan/pectin/ZnO porous films for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 135–145, 2020.

[56] ŠVÁRA, D. et al. The impact of polymer mixture composition on the properties of electrospun membranes for drug delivery applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 647, 2023.

[57] TRINH, B. M.; CHANG, C. C.; MEKONNEN, T. H. Facile fabrication of thermoplastic starch/poly (lactic acid) multilayer films with superior gas and moisture barrier properties. **Polymer**, v. 223, p. 123679, 2021.

[58] UDAYAKUMAR, G. P. et al. Biopolymers and composites: Properties, characterization and their applications in food, medical and pharmaceutical industries. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, p. 105322, 2021.

[59] VAN RIEL NETO, F. et al. Controlling curcumin/acrylic polymer interactions for tailored delivery systems. **Chemical Physics**, v. 587, 2024.

[60] VAN ROOYEN, B. et al. Effect of Native Mucilage on the Mechanical Properties of Pectin-Based and Alginate-Based Polymeric Films. **Coatings**, v. 13, n. 9, p. 1611, 2023.

[61] VECCHI, C. F. et al. Mucoadhesive polymeric films comprising polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, and poloxamer 407 for pharmaceutical applications. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 26, p.182-191, 2021.

[62] YANG SUN, et al. Effects of plasticizer type and concentration on rheological, physico-mechanical and structural properties of chitosan/zein film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 334-340, 2020.

[63] ZENG, J. et al. Development of high-barrier composite films for sustainable reduction of non-biodegradable materials in food packaging application. **Carbohydrate Polymers**, v. 330, p. 121824, 2024.

Capítulo 2

Aplicações de quitosana, ferrita de cobre e extrato da casca de romã: perspectivas na regeneração tecidual e tratamento de feridas

Meirilany Rozeno Costa
Dayanne Tomaz Casimiro da Silva
Elvia Leal
Luciano do Nascimento
José Adeilton de Carvalho Filho
Giovane Santos Duarte
Ester Oliveira Campos
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Resumo: Feridas crônicas, como as causadas por queimaduras, traumas e doenças metabólicas, representam desafios importantes para a saúde pública devido à complexidade do processo de cicatrização e à crescente resistência bacteriana. Este capítulo explora abordagens inovadoras no tratamento de feridas, utilizando biomateriais naturais, como quitosana, ferrita de cobre e extrato de casca de romã, que demonstram propriedades regenerativas e antimicrobianas. A quitosana, um biopolímero derivado da quitina, tem se destacado por sua biocompatibilidade, atividade antimicrobiana e capacidade de promover a regeneração tecidual. Quando combinada com outros materiais, como nanopartículas metálicas, a quitosana oferece uma plataforma promissora para o desenvolvimento de curativos avançados. A ferrita de cobre ($CuFe_2O_4$), com suas propriedades magnéticas e antibacterianas, é outro componente de destaque. Seu uso em sistemas de liberação controlada de medicamentos e na engenharia tecidual pode acelerar a cicatrização e reduzir infecções em feridas difíceis de tratar. O extrato da casca de romã (Punica granatum L.) apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas, sendo promissor no tratamento de feridas e regeneração tecidual. A punicalagina, principal polifenol da casca de romã, se destaca por seu efeito antioxidante, neutralizando os radicais livres e minimizando o dano oxidativo em tecidos danificados. O presente capítulo revisa as propriedades individuais e sinérgicas desses materiais e destaca seu potencial no desenvolvimento de curativos bioativos, discutindo as interações físico-químicas que os tornam adequados para aplicações biomédicas.

Palavras-chaves: Engenharia tecidual. Feridas crônicas. Quitosana. Ferrita de cobre. Extrato da casca de romã.

1. INTRODUÇÃO

Feridas causadas por queimaduras, doenças crônicas, traumas e remoção de tumores, causam dor e infecção e afetam a vida e a saúde das pessoas (Chambers e Stejic, 2020). Uma ferida cicatriza de maneira complexa, que inclui inflamação, proliferação de células e remodelação do tecido (Parfejevs *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019). Os curativos para feridas geralmente não apresentam atividade antibacteriana adequada. Como resultado, o paciente necessita de muitos antibióticos, o que geralmente resulta no desenvolvimento de resistência bacteriana. É necessário produzir um curativo antibacteriano que contribua para um ambiente úmido, biocompatível e não tóxico, e possa substituir os antibióticos de amplo espectro (Sukri *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019; Yusefi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Sabbagh e Kim, 2022).

O peso econômico das feridas crônicas e o aumento das infecções bacterianas resistentes aos antibióticos, levou a estudos sobre a utilização de produtos naturais e medicamentos fitoterápicos para a cicatrização de feridas (Debone *et al.*, 2019; Barbalho *et al.*, 2022; Hussain *et al.*, 2022). Essas abordagens demonstraram eficácia no direcionamento de múltiplos mecanismos envolvidos no reparo tecidual, incluindo efeitos imunomoduladores e propriedades anti-inflamatórias, que são acopladas à proliferação de fibroblastos, remodelação da matriz extracelular e angiogênese. Além dos óleos essenciais, extratos de plantas medicinais têm sido tradicionalmente usados na medicina popular para tratamento de feridas, quando combinados com biopolímeros como quitosana, alginato, gelatina e colágeno. Essas combinações foram processadas em curativos ativos para feridas, que oferecem propriedades adicionais como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Luca *et al.*, 2021; Yazarlu *et al.*, 2021).

A utilização de materiais avançados e terapias inovadoras para o tratamento de feridas crônicas tornou-se um campo de pesquisa e desenvolvimento essencial na área da medicina. A busca de terapias avançadas e inovadoras para o tratamento de feridas crônicas tem se tornado uma prioridade na área médica. Vários estudos relataram o uso de filmes compostos à base de quitosana para tratamento de feridas (Akbar *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). Foi demonstrado que a quitosana tem vários efeitos positivos na cicatrização de feridas através da sua capacidade de facilitar a fixação e proliferação de fibroblatos e queratinócitos, também pode melhorar a resposta inflamatória no local da ferida, promovendo a secreção de fatores antiinflamatórios, reduzindo assim a produção de citocinas pró-inflamatórias (Yang *et al.*, 2020).

O uso de íons metálicos como agentes terapêuticos tem ganhado muita atenção em diversas aplicações de cicatrização de feridas devido à sua disponibilidade, baixo custo, alta estabilidade e flexibilidade durante a incorporação no curativo (Wang, H. *et al.*, 2021). É relatado que os íons de cobre desempenham um papel importante na cicatrização de feridas em todos os estágios, modulando várias citocinas e fatores de crescimento (Kornblatt *et al.*, 2016). Além de estimular a atividade enzimática , o cobre também está envolvido na ligação cruzada do colágeno e da elastina e tem um alto efeito antibacteriano (Arendsen *et al.*, 2019).

Por outro lado, pesquisas vêm evidenciando o potencial do extrato da casca de romã (*Punica granatum L.*) conhecido por suas altas atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais (Wafa *et al.*, 2017; Angamuthu *et al.*, 2019). Estudos relataram o uso da *Punica granatum L.* para a síntese de nanopartículas metálicas e filmes de

quitosana para melhorar as características antibacterianas/antioxidantes (Shahbazi e Shavisi, 2018; Sukri *et al.*, 2019; Yusefi *et al.*, 2020).

Este capítulo revisa as principais aplicações desses materiais - quitosana, ferrita de cobre e extrato da casca de romã – destacando suas propriedades individuais e sinergéticas no desenvolvimento de soluções inovadoras para o tratamento de feridas e regeneração tecidual. Serão abordadas as interações físico-químicas e biológicas que tornam esses materiais adequados para essas aplicações, bem como suas perspectivas futuras na medicina.

2. METODOLOGIA

Este capítulo foi desenvolvido por meio de uma revisão da literatura, com o objetivo de explorar o uso de biomateriais, como quitosana, ferrita de cobre e extrato da casca de romã, no tratamento de feridas e na regeneração tecidual. A pesquisa bibliográfica foi conduzida em bases de dados científicos como *PubMed, ScienceDirect, Scopus* e Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde – BVS, utilizando palavras-chave relevantes, incluindo "quitosana", "ferrita de cobre", "extrato da casca de romã", "tratamento de feridas", "regeneração tecidual", "curativos bioativos", "nanopartículas" e "biomateriais". Foram selecionados artigos publicados nos últimos cinco anos (2021 à 2024), para garantir que os dados revisados fossem atuais e baseados em evidências. A análise focou em estudos que discutem as propriedades físicas, químicas e biológicas desses materiais, bem como suas interações e aplicações na medicina regenerativa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1.ENGENHARIA TECIDUAL

A engenharia de tecidos é um campo emergente que promete muito na criação de tecidos funcionais para substituir tecidos danificados ou perdidos e restaurar sua função normal. A engenharia de tecidos é a combinação de biomateriais, células e fatores de crescimento, para facilitar a regeneração do tecido. Na engenharia de tecidos da pele, uma variedade de biomateriais e células pode ser utilizada para promover a cicatrização de feridas (Shariatzadeh *et al.*, 2025).

A área da engenharia de tecidos está crescendo rapidamente, e o desenvolvimento de estruturas biofuncionais para imitar o ambiente natural do tecido corporal para substituir os tecidos danificados ou doentes. Os materiais nanoestruturados possuem maior área superficial e natureza biomimética, permitindo assim uma melhor adesão celular do que os materiais convencionais, o que é necessário para materiais utilizados em aplicações de engenharia de tecidos. Ao contrário dos materiais convencionais, os nanomateriais imitam a matriz extracelular natural, para uma melhor adsorção de proteínas e também estimular uma melhor regeneração dos tecidos (Perumal e Doble, 2021).

Os biomateriais promovem a ligação e migração de células estaminais e progenitoras hospedeiras, fornecendo uma estrutura de suporte e incentivando a diferenciação de tais células em tipos de células específicas de tecidos (Gaharwar *et al.*, 2020). De acordo com sua composição química, os biomateriais para engenharia de tecidos estão disponíveis em metais, cerâmicas, polímeros naturais e sintéticos e seus compósitos. O campo dos biomateriais evoluiu da simples adoção de materiais industriais

adequados para aplicações biomédicas para o uso de características químicas e estruturais projetadas biomimeticamente, permitindo aos pesquisadores de biomateriais projetar interações e funções desejáveis entre células e materiais (Armiento *et al.*, 2020).

Estudos demonstraram que a combinação de materiais sintéticos, naturais e outros materiais biocompatíveis pode ser considerada uma abordagem ideal para superar as limitações atuais de um único material e melhorar o comportamento do biomaterial em um ambiente biológico (Lei *et al.*, 2021; Cai, Jiangyu *et al.*, 2023; Govindaraju *et al.*, 2023; Azarsa *et al.*, 2024). Por exemplo, Ossa et al. (2021) desenvolveram diferentes tipos de estruturas fibrosas eletrofiados de poli-hidroxialcanoato (PHA) carregados com extrato de folha de oliveira como agentes anti-inflamatórios e antibacterianos para aplicações de cicatrização de feridas e regeneração de tecidos da pele. Os resultados demonstraram que as malhas de fibras de PHA reduziram as citocinas pró-inflamatórias e o extrato de folha de oliveira pode apresentar propriedades antibacterianas indiretas , o que é necessário para a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos.

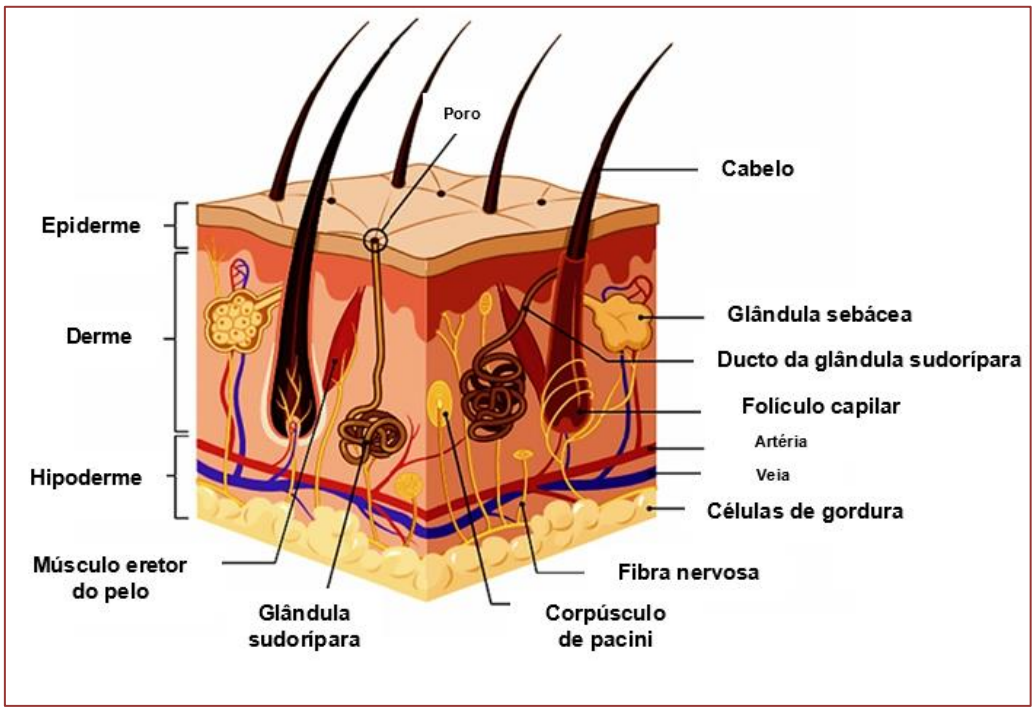
A engenharia de tecidos é um campo multidisciplinar focado na regeneração de tecidos humanos. Embora o corpo tenha capacidades inerentes de autocura, o nível de regeneração difere entre os tecidos. Também pode ser dificultado pela gravidade da lesão ou doença (Makvandi *et al.*, 2021; Rabiee e Iravani, 2023). As estratégias mais recentes em engenharia de tecidos dependem de uma combinação de células, estruturas de biomateriais e moléculas bioativas para simular a regeneração de tecidos (Ghovvati *et al.*, 2023). A descoberta dos biomateriais apropriados que melhoram os processos regenerativos oferecendo estruturas com características mecânicas exigidas nos tecidos são considerados essenciais na engenharia de tecidos (Pirmoradian *et al.*, 2023). Além disso, os biomateriais selecionados devem degradar-se a uma taxa equivalente ao crescimento de novo tecido no local de implantação (Esmaeili *et al.*, 2023).

3.2 ENGENHARIA DE PELE

O principal objetivo da engenharia de tecidos da pele é garantir que a anatomia normal da pele se regenere, devolvendo a pele nativa à sua estrutura e função originais, mantendo a quantidade adequada de umidade no microambiente da ferida e prevenindo infecções (Ayran *et al.*, 2022; Puigmal *et al.*, 2023).

A pele humana é o órgão que cobre a maior área do corpo humano. É uma barreira que separa tecidos e órgãos no corpo e o ambiente externo, e tem funções como regulação da temperatura corporal. A pele humana tem uma estrutura em camadas, consistindo principalmente de camada epidérmica, camada dérmica e tecido subcutâneo de fora para dentro, rico em vasos sanguíneos, nervos e músculos (Chu *et al.*, 2024). Um modelo da seção transversal de camadas e estrutura da pele humana é mostrado na Figura 1.

Figura 1 - Seção transversal de camadas e estrutura da pele humana.



Fonte: Sabbagh e Kim, 2022.

A camada epidérmica é a camada mais externa da pele e sua espessura é de cerca de 0,1 mm. Não há vasos sanguíneos na camada epidérmica. Ela é subdividida em estrato córneo, camada granular, camada espinhosa e camada basal. A camada dérmica fica abaixo da epiderme e a espessura é de cerca de 1-3 mm. Esta camada é rica em vasos sanguíneos. A derme é ainda dividida em uma camada papilar superficial e uma camada reticular. A camada papilar é fina e forma uma borda ondulada com a camada da epiderme. A camada reticular é mais espessa e tem vasos sanguíneos maiores. A espessura do tecido subcutâneo é geralmente de 3-5 mm (Chu *et al.*, 2024).

O corpo é protegido de infecções e outros antígenos pela pele, que é o maior órgão do corpo humano. A pele tem a capacidade de se curar, interromper a perda de umidade e controlar a temperatura. Também funciona como proteção contra potenciais danos térmicos, mecânicos e químicos. Em situações em que o processo natural de cura é inatingível ou insuficiente, como no caso de lesões graves ou queimaduras, a pele pode se recuperar por meio da abordagem de engenharia de tecidos cutâneos (Ayran *et al.*, 2022; Puigmal *et al.*, 2023).

Os biomateriais usados em aplicações de pele são projetados precisamente para interagir com o tecido e as células circundantes, promovendo ativamente a regeneração ao fornecer um biomaterial estável, porém degradável, que orienta o comportamento celular. Esses biomateriais podem ser derivados de fontes naturais ou sintéticas. Eles também podem assumir várias formas, incluindo hidrogéis, filmes nanofibrosos e membranas, bem como nano e micropartículas. Além disso, esses biomateriais podem ser adaptados para possuir características e propriedades específicas para atender aos requisitos exclusivos da engenharia de tecidos da pele. Essas características podem incluir arranjos estruturais específicos, resistência mecânica, taxas de

biodegradabilidade, bem como propriedades físicas como absorção de água e permeação de gás. Ao projetar esses biomateriais, os pesquisadores visam otimizar seu desempenho com objetivo na cicatrização de feridas sem cicatrizes e na obtenção de regeneração tecidual bem-sucedida (Shariatzadeh *et al.*, 2025).

3.3 FERIDAS CRÔNICAS

As feridas crônicas são patologias que impactam negativamente a saúde dos pacientes e representam um grande desafio na conduta terapêutica, podendo levar a gastos consideráveis ao sistema de saúde. O tratamento dessas feridas continuam sendo um desafio mundial. É inegável que pacientes com problemas de cicatrização, distúrbios metabólicos do microambiente da ferida e feridas gravemente infectadas, impactam negativamente a qualidade de vida desses pacientes (Cui *et al.*, 2022). O termo feridas crônicas foi alterado para feridas de difícil cicatrização, por se tratarem de feridas que não respondem aos cuidados padronizados (Murphy *et al.*, 2020). As feridas crônicas podem surgir de queimaduras, pressão sustentada na pele (úlceras de pressão) e doenças metabólicas (úlceras no pré diabético) (Przekora, 2020).

É necessária uma abordagem bem planeada e sistemática à limpeza de feridas de difícil cicatrização para tratamento. A sua utilização em combinação com a estrutura TIMERS (tecido, inflamação, umidade, borda, regeneração/reparação, fatores sociais), ajudará no tratamento, podendo ser usado em todas as feridas, inclusive agudas e pós-operatórias. O princípio fundamental da higiene da ferida é remover ou minimizar todos os materiais indesejados, incluindo tecido desvitalizado. Como todas as formas de higiene: a ferida deve ser limpa, desbridada e suas bordas remodeladas a cada avaliação e troca de curativo (Atkin *et al.*, 2019; Murphy *et al.*, 2020).

O tratamento das feridas de difícil cicatrização se inicia-se na prescrição do agente terapêutico apropriado, sucedido do uso de instrumentos que permitam ao profissional documentar as avaliações da ferida, e consequentemente facilitam a identificação de suas características que indicam evolução positiva ou negativa (Domingues *et al.*, 2018).

3.4. TRATAMENTO DE FERIDAS

As feridas são lesões teciduais ocasionadas por fatores intrínsecos e/ou extrínsecos, podendo ser tratadas de diversas maneiras a depender se sua etiologia (Bernardino e Matsubara, 2022). O processo de cicatrização das lesões consiste nas fases: inflamatória, proliferativa/granulação e maturação, onde cada etapa é fundamental para a reabilitação do tecido lesionado (Galvão *et al.*, 2022). Alguns fatores podem influenciar o processo, retardando-o, como idade, estado nutricional do indivíduo, infecções, diabetes mellitus, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, aterosclerose, disfunção renal e tabagismo (Silva *et al.*, 2021).

Devem-se levar em consideração todos os aspectos etiológicos e o histórico da ferida para traçar planos de cuidado (Gois *et al.*, 2021). No que diz respeito ao uso de produtos no tratamento dessas lesões, com o avanço tecnológico e a extração de novas matérias, ao longo dos anos vários tratamentos foram descobertos, o que auxilia na tomada de decisão dos profissionais frente a esses cuidados (Bernardino e Matsubara, 2022).

Por conseguinte, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares é uma forma de utilizar recursos terapêuticos, não oriundos de medicamentos, que busca o reconhecimento das tradições para o cuidado humano, vem para validar e incluir a utilização de plantas medicinais como forma de intervenção para uma gama de enfermidades (Costa *et al.*, 2021). O manejo de feridas inclui diferentes estágios, como hemostasia, anti-inflamatório, anti-infecção e cicatrização de feridas (Dong e Guo, 2021; Musaie *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023). A inflamação induzida por espécies reativas de nitrogênio (RNS) e espécies reativas de oxigênio (ERO), bem como infecção bacteriana, são causas dominantes de lesões prolongadas em feridas e tratamento tardio de feridas (Zhang *et al.*, 2023).

Nas últimas décadas, muitos biomateriais, como nanofibras, espumas porosas, membranas e hidrogéis multifuncionais, foram projetados para o tratamento de feridas (Asadi *et al.*, 2021; Liang *et al.*, 2022). Entre eles, o hidrogel tridimensional, que não só possui excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, mas também pode ser facilmente modificado para fornecer mais funcionalidades, tem sido considerado um curativo promissor (Han e Wang, 2022; Cai, Jie *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2023).

3.5. TIPOS DE CURATIVOS

Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente na engenharia de biomateriais que se concentra no desenvolvimento de novos curativos para melhorar e acelerar a cicatrização de feridas. O curativo ideal deve ser feito de material não tóxico, flexível e mecanicamente estável. Deve também fornecer um ambiente úmido, boa oxigenação e prevenir infecções bacterianas. Além disso, os curativos para feridas devem possuir boa capacidade de absorção/retenção de fluidos (Aljghami *et al.*, 2019; Wojcik *et al.*, 2021).

A engenharia de tecidos estabeleceu um progresso significativo no desenvolvimento de curativos avançados através da fabricação de estruturas nanofibrosas biomiméticas em relação a uma ampla gama de polímeros biodegradáveis (Zhao *et al.*, 2017; Tottoli *et al.*, 2020). Ao simular a matriz extracelular, esses curativos induzem a adesão celular e orientam a migração celular para acelerar o processo de cicatrização através de duas funções principais: Entrega controlada de agentes biológicos e terapêuticos e aumento da proliferação de células de fibroblastos (Ambekar e Kandasubramanian, 2019; Perumal e Doble, 2021).

O curativo é descrito como uma barreira estéril compacta que mantém os tecidos epidérmicos lesionados protegidos do exterior e acelera o processo de cicatrização. O curativo deve proteger a ferida contra microrganismos, fornecer um ambiente úmido para impedir o ressecamento da ferida, diminuir a necrose da superfície da ferida, ser permeável ao oxigênio sem desidratar a ferida, além de ser confortável e evitar traumas mecânicos. Além disso, baixa toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade são alguns critérios notáveis para um material empregado na fabricação de curativos (Dhivya *et al.*, 2015; Gaydhane *et al.*, 2020; Shahid *et al.*, 2020).

Com o desenvolvimento de curativos para feridas ao longo de centenas de anos, um grande número de curativos para feridas tem sido desenvolvido. Os curativos convencionais visam controlar a hemorragia e promover a cicatrização da ferida. Nesse caso, as principais características do curativo podem ser resumidas da seguinte forma: proteger a ferida de lesões secundárias, manter a umidade do local da ferida, facilitar a

remoção do excesso de exsudato e prevenir infecções (Nosar e Ziora, 2018; Zhong *et al.*, 2020; Dong e Guo, 2021). Assim, materiais para curativos com qualidades excepcionais são comumente utilizados no tratamento de feridas para auxiliar na cicatrização de feridas, propriedades mecânicas, biodegradabilidade e biocompatibilidade (Fahimirad *et al.*, 2021). Atualmente, os curativos são produzidos a partir de diversos materiais sintéticos ou naturais e podem ser confeccionados em diversas formas, como filme, hidrocolóide, hidrofibra, hidrogel ou espuma. É importante ressaltar que a seleção do curativo deve ser adaptada ao tipo e às características da ferida (Wojcik *et al.*, 2021).

Hidrogéis funcionais são usados para inúmeras aplicações biomédicas, como engenharia de tecidos, curativos, lubrificantes, lentes de contato e sistemas avançados de administração de medicamentos. A maioria deles é baseada em polímeros sintéticos ou naturais que formam uma rede tridimensional que contém meios aquosos. Entre os polímeros sintéticos, poli(met)acrilatos, polietilenoglicóis, poli(vinilálcoois), poli(vinilpirrolidonas), PLGA e poli(uretanos) são de alta relevância, enquanto os polímeros naturais são principalmente polissacarídeos, como ácido hialurônico, alginato ou quitosana, e proteínas, como albumina, colágeno ou elastina. Em contraste com a maioria dos polímeros sintéticos, os polímeros naturais são biodegradáveis. Tanto os polímeros sintéticos quanto os naturais são frequentemente modificados quimicamente para melhorar ou induzir propriedades e funções favoráveis, como alta resistência mecânica, rigidez, elasticidade, alta porosidade, propriedades adesivas, propriedades de gelificação *in situ* , alta capacidade de ligação de água e propriedades de controle de liberação de medicamentos (Zöller *et al.*, 2025).

Hidrogéis funcionais são amplamente utilizados como curativos para feridas por várias razões. Um curativo ideal para feridas precisa proteger a ferida, absorver o exsudato da ferida e, por outro lado, reter umidade, inibir o crescimento de microrganismos e acelerar o processo de cicatrização. Além disso, ele precisa selar a ferida adequadamente, para prevenir infecções e promover a proliferação de células residuais. A biocompatibilidade do curativo para feridas é de grande importância, bem como a facilidade de aplicação para o paciente, para garantir a conformidade. Entre os produtos disponíveis, os hidrogéis podem potencialmente atender a todas as demandas por um curativo adequado para feridas e, portanto, são objeto de investigações intensivas e melhorias contínuas (Liang *et al.*, 2021; Laurano *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, os hidrogéis surgiram como um campo promissor para curativos (Zhong *et al.*, 2020). Originalmente, esses hidrogéis serviam apenas como uma barreira física e forneciam um ambiente úmido para feridas (Xu, B. *et al.*, 2021). No entanto, devido à dificuldade de cicatrização de feridas diabéticas, maiores expectativas clínicas foram colocadas no desempenho e na funcionalidade dos curativos. Os hidrogéis são considerados uma formulação ideal para o tratamento de feridas devido à sua excelente capacidade de absorção de fluidos aquosos, estabelecendo um ambiente local adequado para a cicatrização de feridas com penetração mantida de oxigênio (Gorain *et al.*, 2022).

Curativos para feridas à base de hidrogel já chegaram ao mercado. Entre eles, especialmente curativos para feridas à base de alginato, por exemplo, Algisite, Kaltostat (Tavakoli e Klar, 2020) derivados de celulose, por exemplo, Comfeel Plus Contour Dressing, Gentell CMC Fiber Dressing (Cascone e Lamberti, 2020) e colágeno/gelatina, por exemplo, Biobrane, CollaSorb (Laurano *et al.*, 2022), estão amplamente disponíveis em uma variedade de tamanhos pré definidos de diferentes fabricantes. A principal diferença dos curativos de alginato e celulose é, além de seus preços comparativamente acessíveis,

a sua capacidade de absorver grandes quantidades de exsudato da ferida (Hu e Xu, 2020; Su *et al.*, 2021).

Uma tendência observada é o foco crescente em curativos de feridas bioinspirados, aumentando o potencial de cicatrização de feridas de curativos de hidrogel convencionais pela implementação de compostos auxiliares potentes e naturais. Um excelente exemplo para esse conceito é o EDX110, um curativo de gel inovador de duas camadas que libera óxido nítrico. Na verdade, ambas as camadas podem ser consideradas curativos separados. De acordo com a patente, a camada inferior do curativo é um material polimérico de malha permeável, como poliamida, poliéster ou polipropileno. Esta camada é embebida com uma solução de nitrito e estará diretamente em contato com a ferida. A camada superior é um hidrogel adesivo e biocompatível que contém íons de hidrogênio para criar um ambiente ácido. Hidrogéis à base de acrílico, ácido metacrílico ou AMPS são uma escolha adequada. Quando ambas as camadas são colocadas em contato uma com a outra, uma reação química é buscada que produz óxido nítrico terapêutico, que permeia através da primeira camada em direção ao local da ferida. Ambas as camadas devem ser mantidas separadas até o uso para evitar a geração contínua de óxido nítrico. Devido à superfície maior e às propriedades adesivas da camada superior de hidrogel, ela é capaz de fixar a camada inferior de malha solta ao local da ferida. Além disso, ela absorve o exsudato da ferida e fornece um ambiente úmido para a cicatrização da ferida (Zöller *et al.*, 2025).

Filmes à base de polímeros têm emergido como formas farmacêuticas promissoras para uso como sistemas de liberação de medicamentos para uso tópico, mucoso e oral. Os filmes poliméricos são formas farmacêuticas inovadoras, bem aceitas pelos pacientes e apresentam vantagens em relação às formas farmacêuticas convencionais. São fáceis de preparar; são flexíveis e adaptáveis; são fáceis de aplicar e remover quando necessário; e, dependendo do tipo de polímero utilizado em seu preparo, podem ter capacidade muco adesiva e serem bioreabsorvíveis, o que evita a necessidade de remoção (Osmałek *et al.*, 2021; Paula *et al.*, 2023).

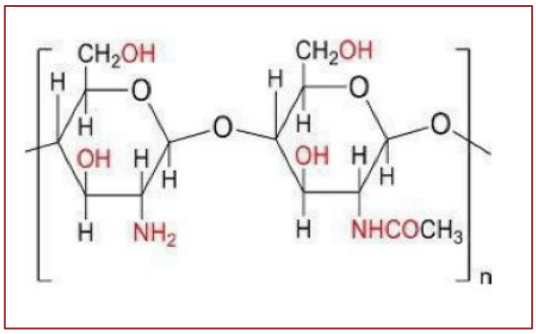
Os filmes podem atuar como matrizes para a liberação sustentada dos princípios ativos, incluindo derivados de plantas medicinais (Osmałek *et al.*, 2021; Paula *et al.*, 2023). No caso de lesões de pele, os filmes à base de polímeros podem atuar como barreira física local contra a entrada de microrganismos, remover o excesso de exsudatos e permitir trocas gasosas com o meio ambiente (Lam *et al.*, 2018; Umar *et al.*, 2020).

3.6. QUITOSANA

A quitosana é um biopolímero N-desacetilado biocompatível, natural, à base de quitina. Apresenta biocompatibilidade, biodegradação, atividade antibacteriana e mínima imunogenicidade. Tem capacidade de criar poros e tem potencial para ser usado em engenharia de tecidos, administração de medicamentos e cicatrização de feridas (Pilavci *et al.*, 2022). Os nanomateriais de quitosana tornaram-se importantes na biomedicina devido a exercerem efeitos antimicrobianos com níveis interessantes de biodegradabilidade e biocompatibilidade sem causar toxicidade. Considerada como um potencial para curativo com atividade antimicrobiana, a quitosana apresenta maior eficiência quando é modificada com outros compostos naturais, partículas antimicrobianas metálicas e antibióticos (Rashki *et al.*, 2021).

Recentemente, alguns polissacarídeos com propriedades biomédicas têm recebido grande atenção para distribuição sustentada de medicamentos (Alvarado *et al.*, 2022). Os polímeros foram aprimorados para desenvolvimento de diferentes tecnologias, como bioengenharia, biotecnologia e medicina (Periyasamy *et al.*, 2019; Çaykara *et al.*, 2020; Peian *et al.*, 2021). Os polissacarídeos são um tipo de biomaterial utilizado em sistemas de liberação de medicamentos e possuem formulações adequadas para distribuição de medicamentos. A quitosana possui propriedades importantes de polímeros biomédicos, incluindo biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e mucoadesividade com resistência mecânica (Adepu e Ramakrishna, 2021). A quitosana é um polissacarídeo linear (Figura 2) que consiste em D-glucosamina e N-acetil D-glucosamina conectada com β-(1-4) ligações glicosídicas (Rashki *et al.*, 2021).

Figura 2 - Estrutura química da quitosana.



Fonte: Hameed *et al.*, 2023.

Como polissacarídeo catiônico biocompatível e biodegradável, a quitosana é capaz de regular a secreção de mediadores inflamatórios e melhorar a função das células inflamatórias (Ouyang *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2023). A quitosana desempenha um papel vital na cicatrização de feridas em todas as suas fases. No estágio inicial de hemostasia, a quitosana estimula a agregação plaquetária e eritrocitária, ao mesmo tempo que inibe a degradação de fibrina. Durante a segunda fase inflamatória da ferida, a quitosana ajuda a erradicar todo o microrganismo da ferida. Por fim, estimula a formação de tecido de granulação, acelerando o crescimento das células da pele. Consequentemente, a quitosana é amplamente utilizada como componente regenerativo em curativos para feridas (Raina *et al.*, 2022b).

A quitosana é um polissacarídeo linear com natureza catiônica e alto potencial para encapsular ingredientes naturais. Isto resultaria no desenvolvimento de diferentes formas de matriz de quitosana (nanopartículas, nanoemulsões, nanofibras, hidrogéis, filmes e revestimentos). Esses sistemas podem ser usados para o encapsulamento de extratos de ervas medicinais e óleos essenciais para aplicações potenciais na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (Kumar *et al.*, 2019). Vários estudos foram realizados para investigar a toxicidade dos derivados da quitosana. Até o momento, várias abordagens foram inovadoras para produzir nanopartículas de quitosana. No entanto, estes métodos devem ser escolhidos com base nas características físico-químicas dos medicamentos carregados, através da seleção de um peso molecular desejável, níveis de acetilação e características químicas da quitosana (Rashki *et al.*, 2021).

A utilização de polímeros naturais na cicatrização de feridas tem sido uma prática de longa data. A quitosana é um desses polímeros que possui várias propriedades biológicas desejáveis, incluindo atividades antimicrobianas, biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade hemostática, função imunopotenciadora e estimulação de cura. Estas características únicas tornam a quitosana um agente de "curativo bioativo" ideal que desempenha um papel ativo na cicatrização de feridas (Confederat *et al.*, 2021). A quitosana desempenha um papel vital no apoio à cicatrização de feridas em todas as suas fases. No estágio inicial de hemostasia, a quitosana estimula a agregação plaquetária e eritrocitária, ao mesmo tempo que inibe a privação de fibrina. Durante a segunda fase inflamatória da ferida, a quitosana ajuda a erradicar todo o microrganismo da ferida. Por fim, estimula a formação de tecido de granulação, acelerando o crescimento das células da pele. Consequentemente, a quitosana é amplamente utilizada como componente regenerativo em curativos (Raina *et al.*, 2022a).

3.7. NANOMATERIAIS METÁLICOS PARA APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Os avanços atuais na nanotecnologia são resultado do desenvolvimento de nanopartículas projetadas. Várias nanopartículas metálicas (NPs) têm sido extensivamente exploradas para diversas aplicações biomédicas. Eles atraem muita atenção na área biomédica devido à sua natureza inerte e estruturas em nanoescala, com tamanho semelhante a muitas moléculas biológicas. Suas características intrínsecas que incluem ressonância eletrônica, óptica, físico-química e de superfície plasmônica, que podem ser alteradas modificando certas características de partículas, como tamanho, forma, proporção de aspecto, facilidade de síntese e propriedades de funcionalização, levaram a inúmeras aplicações em vários campos da biomedicina. Isso inclui administração direcionada de medicamentos, detecção, terapia fototérmica e fotodinâmica (Khursheed *et al.*, 2022).

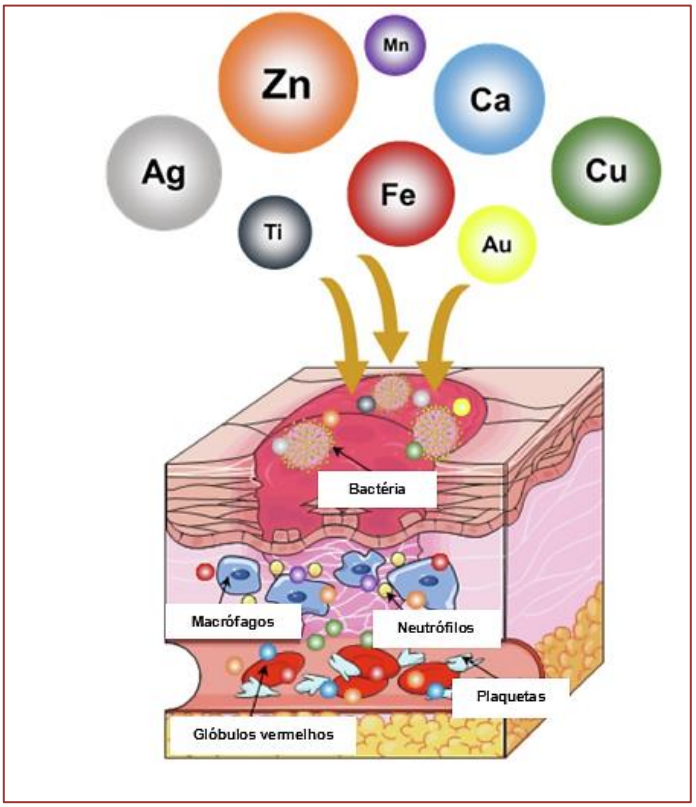
Uma das principais motivações para o uso de nanopartículas no campo biomédico é a sua capacidade de atingir especificamente células, tecidos ou órgãos de interesse. As nanopartículas podem ser funcionalizadas com ligantes específicos que reconhecem e se ligam seletivamente a alvos específicos, como células tumorais ou locais de inflamação. Isso permite que agentes terapêuticos ou de imagem sejam entregues diretamente na área alvo, melhorando a eficácia do tratamento ou a precisão do diagnóstico (Zamani *et al.*, 2022; Setia *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2023).

As nanopartículas de ferrita de espinélio estão entre as nanopartículas mais utilizadas na área biomédica. Ferritas de espinélio são materiais magnéticos compostos de óxidos metálicos com propriedades magnéticas interessantes e excelente biocompatibilidade, tornando-os adequados para uma ampla gama de aplicações biomédicas (Bilas *et al.*, 2017; Tamboli *et al.*, 2023). Em comparação com as formulações convencionais de íons metálicos, as NPs metálicas são menores em tamanho e possuem uma área superficial maior, permitindo-lhes aderir melhor às superfícies das células bacterianas. Consequentemente, mais íons metálicos penetram nas paredes celulares bacterianas e nas membranas celulares, catalisam a produção de espécies reativas de oxigênio, rompem as estruturas da membrana celular e se ligam ao DNA intracelular para realizar efeitos bactericidas (Vimbela *et al.*, 2017; Ye *et al.*, 2023).

Nanopartículas de óxido de ferro (NPs de Fe_3O_4) foram aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA para seu uso clínico no tratamento da anemia por deficiência de ferro, agentes de contraste em ressonância magnética e propriedades

antibacterianas (Alonso *et al.*, 2019). Pesquisas recentes sugeriram que as nanopartículas, particularmente as NPs metálicas, abrem um novo caminho para melhorar a eficácia antimicrobiana e reduzir a incidência de resistência aos antibióticos. Nanopartículas constituídas por metais como ouro (Au), prata (Ag), cobre (Cu), zinco (Zn) e ferro (Fe) demonstraram atividade bactericida contra uma ampla gama de microrganismos (Ye *et al.*, 2023). A Figura 3 ilustra a ação das nanopartículas metálicas no processo de cicatrização de feridas, destacando sua interação com células do sistema imunológico, como macrófagos e neutrófilos, capacidade de eliminar bactérias, reduzir a inflamação e estimular a regeneração tecidual.

Figura 3 - Nanopartículas metálicas no processo de tratamento de feridas.



Fonte: Wang, H. *et al.*, 2021.

Os elementos metálicos estão envolvidos em muitos processos regulatórios complexos no reparo de feridas, que estão intimamente relacionados à expressão de muitos genes, à síntese de proteínas e à transdução de sinal. No processo de hemostasia o zinco, cálcio e ferro apresentam importantes efeitos reguladores para prevenir a perda excessiva de sangue. Na fase de resposta inflamatória, alguns elementos metálicos, como zinco, manganês e ferro, participam da regulação das células relacionadas à inflamação para que a resposta inflamatória comece e termine dentro de um período de tempo adequado. O cobre está intimamente relacionado à angiogênese. Além disso, alguns elementos metálicos, como ouro, prata, cobre, zinco, ferro e titânio, possuem atividade antibacteriana inerente, o que lhes confere valor potencial de aplicação no tratamento antibacteriano de feridas (Wang, H. *et al.*, 2021).

Os nanomateriais de óxido metálico ganharam atenção considerável devido às suas propriedades físico-químicas, acessibilidade, estabilidade e facilidade de armazenamento (Liu *et al.*, 2021). Pesquisas recentes propuseram, prepararam e utilizaram nanomateriais de óxido metálico em fotocatálise e biomedicina , incluindo óxido de titânio (TiO_2), óxido de zinco (ZnO) e óxido de cobre (CuO). Sua natureza não tóxica, e alta atividade biológica os tornam atraentes (Kannan *et al.*, 2020). Além disso, estes materiais já demonstraram elevados efeitos na ação antibacteriana e antioxidante que podem ser amplamente aplicados a muitas doenças, particularmente na cicatrização de feridas crônicas (Oun *et al.*, 2020).

3.7.1. FERRITA DE COBRE

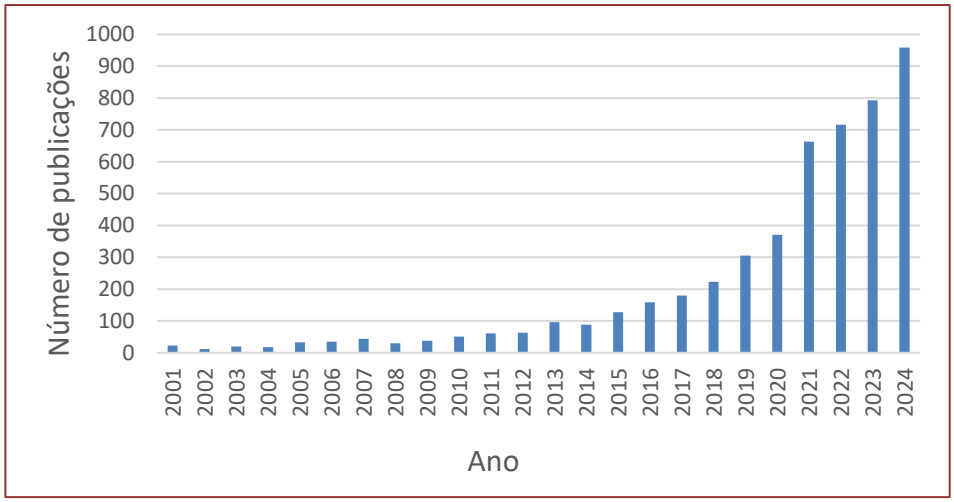
A ferrita de cobre ($CuFe_2O_4$), um material magnético, ganhou destaque nos últimos anos como resultado de suas excelentes características físico-químicas e usos medicinais (Ye *et al.*, 2020; Kahkesh *et al.*, 2023; Ye *et al.*, 2023). O uso de um campo magnético para guiar a migração, proliferação e diferenciação celular promove melhor regeneração tecidual e cicatrização mais rápida de feridas (Nethi *et al.*, 2019; Ye *et al.*, 2023).

As características elétricas, magnéticas e estruturais das ferritas de espinélio nanoestruturadas à base de metais de transição são importantes para o avanço das aplicações baseadas em tecnologia. As ferritas são empregadas em diversas aplicações elétricas e magnéticas avançadas, principalmente nas áreas de engenharia e biomédica. As estabilidades química e térmica e as características elétricas e magnéticas das ferritas do tipo espinélio são domínios reforçados. Várias aplicações, como terapia de hipertermia magnética, ressonância magnética avançada, administração de medicamentos e sensores, empregam esses tipos de materiais nanoestruturados (Xiao *et al.*, 2021; Qayoom *et al.*, 2022; Rather *et al.*, 2023).

Nanopartículas de ferrita de espinélio têm chamado a atenção de pesquisadores devido às suas propriedades únicas e aplicações promissoras (Kahkesh *et al.*, 2023). A presença de íons de cobre e ferro na estrutura cristalina contribui para as propriedades magnéticas únicas da ferrita de cobre. Notavelmente, $CuFe_2O_4$ possui uma combinação distinta de biocompatibilidade, biodegradabilidade e características magnéticas, tornando-o um candidato ideal para diversos fins terapêuticos (Zhang *et al.*, 2020).

Assim, para melhor avaliação e compreensão dos estudos da ferrita de cobre em aplicações biológicas, realizou-se uma pesquisa de publicações de artigos desde 2001 até 2024 na plataforma on-line *Science Direct*, utilizando as palavras chaves: "(ferrita de cobre *OR copper ferrite) AND* (aplicações biológicas *OR biological applications*)". A Figura 4 ilustra a evolução temporal do estudo da ferrita de cobre em aplicações biológicas entre 2001 e 2024. Essa distribuição destaca um crescente interesse na pesquisa e desenvolvimento de nanopartículas de ferrita de cobre ao longo desses anos. Pode-se observar que do total de 5.107 publicações obtidas o maior número de publicações foram nos anos de 2021, 2022, 2023 e 2024, quando comparado com os anos anteriores.

Figura 4 - Evolução anual do estudo da ferrita de cobre em aplicações biológicas (2001 – 2024).



A estrutura específica da ferrita de cobre também influencia sua biocompatibilidade e biodegradabilidade. Além disso, a natureza biocompatível, combinada com a sua capacidade de degradação ao longo do tempo, garante que não cause efeitos adversos a longo prazo nos sistemas biológicos (Ye *et al.*, 2020). Além disso, suas propriedades magnéticas têm aplicações promissoras na regeneração tecidual, onde os campos magnéticos podem ser usados para direcionar e acelerar os processos de cicatrização, promovendo uma recuperação mais eficiente dos tecidos. (Zhang *et al.*, 2020). Suas qualidades especiais são extremamente importantes para facilitar a reparação e regeneração do tecido cutâneo danificado (Wang *et al.*, 2019).

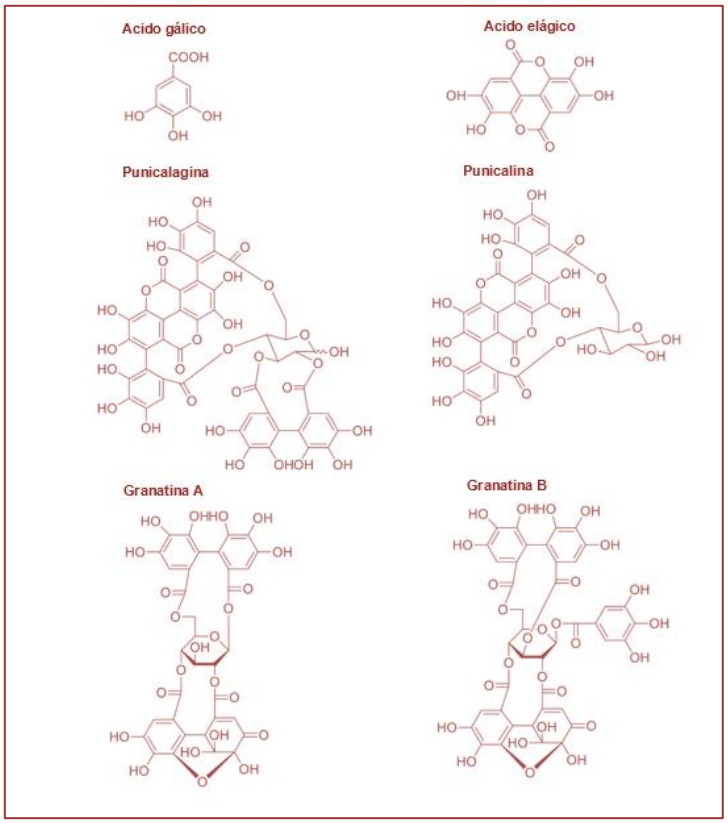
3.8. ROMÃ (PUNICA GRANATUM L.)

A romã (*Punica granatum L.*), conhecida como “fruta do poder da natureza”, é uma planta da família *Lythraceae* e subfamília *Punicoideae*, conhecida como uma das primeiras plantas usadas na medicina popular (Moneim, 2012; Vučić *et al.*, 2019; Wang, Y. *et al.*, 2021). Os destaques da romã são encontrados em seus países endêmicos históricos que datam do início da Idade do Bronze (3500–2000 a.C.) (Cervantes *et al.*, 2021). Esta planta é nativa do Himalaia, e dados botânicos mostram que a Ásia Central em regiões que abrangem do Irã e norte da Índia até o Oriente Médio, região do Mediterrâneo Europeu e norte da África são os primeiros lugares onde o homem cultivou romã (Moneim, 2012; Vučić *et al.*, 2019).

Diferentes partes da romã, como o suco, casca, semente, flor e óleo, têm propriedades e usos diferentes. Por exemplo, o suco de romã pode reduzir a pressão arterial, o colesterol e o dano oxidativo; a casca da romã pode inibir infecções bacterianas e fúngicas; a semente de romã pode modular o metabolismo lipídico e a absorção de glicose; a flor de romã pode melhorar a resistência à insulina e a função endotelial; e o óleo de romã pode melhorar a saúde da pele e a cicatrização de feridas (Moradnia *et al.*, 2024). A casca da *Punica granatum L* tem sido bem reconhecida por conter um número elevado de compostos fenólicos como fontes de antioxidantes naturais. Alguns dos principais compostos fenólicos identificados na casca da romã incluem punicalagina,

ácido gálico, ácido elágico, ácido clorogênico, ácido cafeico, punicalina, apigenina , quercetina , pelargonidina , cianidina, granatina A e granatina B (Singh *et al.*, 2018).

Figura 5 - Estrutura química dos principais compostos fenólicos da casca de romã.



Fonte: Rahman *et al.*, 2022.

A casca de romã, possui boas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórios, devido ao grande número de polifenóis em seus componentes. Punicalagina é o componente polifenólico mais abundante na casca de romã, e sua capacidade antioxidante demonstrou ser mais de 50% de todo o extrato da casca de romã (Xu, J. *et al.*, 2021). O efeito anti-inflamatório da punicalagina se demonstrou como inibição da liberação de fatores pró-inflamatórios como óxido nítrico , fator de necrose tumoral (TNF)-α, interleucina (IL)-1β e IL-6 em macrófagos, promovendo a polarização de macrófagos para o tipo M2c e aumentando a número de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) (Xu *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2017; Yan *et al.*, 2021). Outros estudos mostraram que a punicalagina também tem uma variedade de outras atividades, incluindo atividades anti-apoptose, antiproliferação, antibacteriana, antiviral e antitumoral (Venusova *et al.*, 2021).

A romã tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que conferem vários benefícios à saúde. A romã e seus derivados, como o ácido elágico, conseguem influenciar as atividades moleculares associados ao dano oxidativo, inflamação, ciclo celular, apoptose, angiogênese e metástase. A romã também pode aumentar o sistema imunológico e melhorar a microbiota intestinal. Foi evidenciado que a romã tem efeitos preventivos e terapêuticos contra diversas doenças, como doenças cardiovasculares,

diabetes, doenças neurológicas e câncer. Os benefícios das romãs para a pele humana incluem aumento da umidade, elasticidade, espessura e supressão das enzimas tirosinase. O consumo de romã por quatro semanas pode melhorar a hidratação da pele, o brilho e a redução de manchas causadas por exposição aos raios ultravioleta (Moradnia *et al.*, 2024).

A romã desempenha um papel importante na prevenção e combate ao câncer, devido à sua abundância em polifenóis e antocianinas. Esses compostos naturais podem combater o câncer reduzindo o dano oxidativo e a inflamação, os principais gatilhos do crescimento e disseminação do tumor. A romã também pode atingir os mecanismos e fatores específicos que fazem as células cancerígenas sobreviverem e se multiplicarem. A romã pode restaurar o equilíbrio entre autofagia e apoptose, que são os processos de autodestruição e autorrenovação celular, pode também induzir autofagia e apoptose em células cancerígenas, poupando as células normais (Ganesan *et al.*, 2020). A romã também pode proteger as mitocôndrias, de danos e disfunções causadas pelo câncer e também prevenir a perda da estrutura, função e DNA mitocondrial, essenciais para a energia e o metabolismo celular (Peng *et al.*, 2021).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este capítulo revisou a literatura sobre o uso de biomateriais naturais, como quitosana, ferrita de cobre e extrato da casca de romã, no tratamento de feridas e na regeneração tecidual. A revisão destacou os avanços promissores na aplicação desses materiais, que possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e regenerativas, essenciais para o desenvolvimento de novas terapias. A combinação desses biomateriais em curativos bioativos oferece soluções inovadoras para o tratamento de feridas crônicas, promovendo a cicatrização, modulando a inflamação e estimulando a regeneração celular.

A integração de nanopartículas e sistemas de liberação controlada de medicamentos com esses materiais é um campo emergente, que abre novas perspectivas para terapias mais eficazes e personalizadas. A pesquisa contínua e o desenvolvimento desses biomateriais são fundamentais para enfrentar os desafios das feridas de difícil cicatrização e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Assim, este estudo contribui para o avanço do conhecimento no uso de biomateriais para aplicações médicas, especialmente na medicina regenerativa e no tratamento de feridas crônicas.

REFERÊNCIAS

[1] ADEPU, S.; RAMAKRISHNA, S. Controlled drug delivery systems: current status and future directions. **Molecules,** v. 26, n. 19, p. 5905, 2021.

[2] AKBAR, M. U.; ZIA, K. M.; AKASH, M. S. H.; NAZIR, A.; ZUBER, M.; IBRAHIM, M. In-vivo anti-diabetic and wound healing potential of chitosan/alginate/maltodextrin/pluronic-based mixed polymeric micelles: Curcumin therapeutic potential. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 120, n. Pt B, p. 2418-2430, 2018.

[3] ALJGHAMI; SABOOR, S.; AMINI-NIK, S. Emerging innovative wound dressings. **Annals of Biomedical Engineering,** v. 47, p. 659-675, 2019.

[4] ALONSO, V. T.; PRATT, E. C.; ZONG, H.; LARA-MARTINEZ, A.; KAITTANIS, C.; RABIE, M. O.; LONGO, V.; BECKER, M. W.; ROBOZ, G. J.; GRIMM, J. FDA-approved ferumoxytol displays anti-leukaemia efficacy against cells with low ferroportin levels. **Nature nanotechnology,** v. 14, n. 6, p. 616-622, 2019.

[5] ALVARADO, K., G; CHACÓN-CERDAS, R.; STARBIRD-PEREZ, R. Pectin microspheres: synthesis methods, properties, and their multidisciplinary applications. **Chemistry,** v. 4, n. 1, p. 121-136, 2022.

[6] AMBEKAR, R. S.; KANDASUBRAMANIAN, B. Progress in the advancement of porous biopolymer scaffold: tissue engineering application. **Industrial & Engineering Chemistry Research,** v. 58, n. 16, p. 6163-6194, 2019.

[7] ANGAMUTHU, D.; PURUSHOTHAMAN, I.; KOTHANDAN, S.; SWAMINATHAN, R. Antiviral study on Punica granatum L., Momordica charantia L., Andrographis paniculata Nees, and Melia azedarach L., to Human Herpes Virus-3. **European Journal of Integrative Medicine,** v. 28, p. 98-108, 2019.

[8] ARENDSEN, L. P.; THAKAR, R.; SULTAN, A. H. The use of copper as an antimicrobial agent in health care, including obstetrics and gynecology. **Clinical microbiology reviews,** v. 32, n. 4, p. 10-1128, 2019.

[9] ARMIENTO, A. R.; HATT, L. P.; SANCHEZ ROSENBERG, G.; THOMPSON, K.; STODDART, M. J. Functional Biomaterials for Bone Regeneration: A Lesson in Complex Biology. **Advanced Functional Materials,** v. 30, n. 44, p. 1909874, 2020.

[10] ASADI, N.; PAZOKI-TOROUDI, H.; DEL BAKHSHAYESH, A. R.; AKBARZADEH, A.; DAVARAN, S.; ANNABI, N. J. I. J. O. B. M. Multifunctional hydrogels for wound healing: Special focus on biomacromolecular based hydrogels. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 170, p. 728-750, 2021.

[11] ATKIN, L.; BUĆKO, Z.; MONTERO, E. C.; CUTTING, K.; MOFFATT, C.; PROBST, A.; ROMANELLI, M.; SCHULTZ, G. S.; TETTELBACH, W. Implementing TIMERS: the race against hard-to-heal wounds. **J Wound Care,** v. 28, n. Sup3a, p. S1-S50, 2019.

[12] AYRAN, M.; DIRICAN, A. Y.; SAATCIOGLU, E.; ULAG, S.; SAHIN, A.; AKSU, B.; CROITORU, A. M.; FICAI, D.; GUNDUZ, O.; FICAI, A. 3D-Printed PCL Scaffolds Combined with Juglone for Skin Tissue Engineering. **Bioengineering (Basel),** v. 9, n. 9, p. 427, 2022.

[13] AZARSA, S.; PEZESHKI-MODARESS, M.; YAZDIAN, F.; BAGHER, Z.; CHAHSETAREH, H.; SIMORGH, S.; HEIDARI, M. K.; DAVACHI, S. M. Nanofiber/hydrogel composite scaffolds based on alginate sulfate and extracellular matrix for cartilage tissue engineering applications. **Process Biochemistry,** v. 136, p. 60-71, 2024.

[14] BARBALHO, G. N.; MATOS, B. N.; DA SILVA BRITO, G. F.; DA CUNHA MIRANDA, T.; ALENCAR-SILVA, T.; SODRÉ, F. F.; GELFUSO, G. M.; CUNHA-FILHO, M.; CARVALHO, J. L.; DA SILVA, J. K. D. R. Skin regenerative potential of Cupuaçu seed extract (Theobroma grandiflorum), a native fruit from the Amazon: development of a topical formulation based on chitosan-coated nanocapsules. **Pharmaceutics,** v. 14, n. 1, p. 207, 2022.

[15] BERNARDINO, L. D. L.; MATSUBARA, M. D. G. S. Construção de um instrumento para avaliação do conhecimento sobre ferida neoplásica maligna. **Revista Brasileira de Cancerologia,** v. 68, n. 1, p. 1377, 2022.

[16] BILAS, R.; SRIRAM, K.; MAHESWARI, P. U.; BEGUM, K. M. M. S. Highly biocompatible chitosan with super paramagnetic calcium ferrite (CaFe2O4) nanoparticle for the release of ampicillin. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 97, p. 513-525, 2017.

[17] CAI, J.; GUO, J.; WANG, S. Application of polymer hydrogels in the prevention of postoperative adhesion: A review. **Gels,** v. 9, n. 2, p. 98, 2023.

[18] CAI, J.; LIU, J.; XU, J.; LI, Y.; ZHENG, T.; ZHANG, T.; HAN, K.; CHEN, S.; JIANG, J.; WU, S. Constructing high-strength nano-micro fibrous woven scaffolds with native-like anisotropic structure and immunoregulatory function for tendon repair and regeneration. **Biofabrication,** v. 15, n. 2, p. 025002, 2023.

[19] CASCONE, S.; LAMBERTI, G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review. **International journal of pharmaceutics,** v. 573, p. 118803, 2020.

[20] ÇAYKARA, T.; SANDE, M. G.; AZOIA, N.; RODRIGUES, L. R.; SILVA, C. J. Exploring the potential of polyethylene terephthalate in the design of antibacterial surfaces. **Medical microbiology and immunology,** v. 209, n. 3, p. 363-372, 2020.

[21] CERVANTES, P., ÁLVAREZ-; CANCINO-DÍAZ, J. C.; FABELA-ILLESCAS, H. C. E.; CARIÑO-CORTÉS, R.; LÓPEZ-VILLEGAS, E. O.; ARIZA-ORTEGA, J. A.; BELEFANT-MILLER, H.; BETANZOS-CABRERA, G. Spray-drying microencapsulation of pomegranate juice increases its antioxidant activity after in vitro digestion. **International journal of food science & technology,** v. 56, n. 10, p. 5089-5096, 2021.

[22] CHAMBERS, E. S.; STEJIC, M., VUKMANOVIC. Skin barrier immunity and ageing. **Immunology,** v. 160, n. 2, p. 116-125, 2020.

[23] CHU, M.; GAO, W.; ZHANG, Y. Accurate estimation of depth of papillary layer beneath the human skin, lips and tongues with spatial domain Fourier transform method. **Optics and Lasers in Engineering,** v. 181, p. 108372, 2024.

[24] CONFEDERAT, L. G.; TUCHILUS, C. G.; DRAGAN, M.; SHA'AT, M.; DRAGOSTIN, O. M. Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. **Molecules,** v. 26, n. 12, p. 3694, 2021.

[25] COSTA, I. M.; DE ALMEIDA, J. D.; DA COSTA, K. M.; JARDIM, L. F. S.; DOS SANTOS ROSA, M. J.; PIFANO, P. P.; DE OLIVEIRA, R. R.; SILVA, S. O.; DA SILVA LIMA, S.; GODOY, J. T. Uso de análogos de GLP-1 no tratamento da obesidade: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Health Review,** v. 4, n. 2, p. 4236-4247, 2021.

[26] CUI, R.; ZHANG, L.; OU, R.; XU, Y.; XU, L.; ZHAN, X.-Y.; LI, D. Polysaccharide-based hydrogels for wound dressing: Design considerations and clinical applications. **Frontiers in bioengineering and biotechnology,** v. 10, p. 845735, 2022.

[27] DEBONE, H. S.; LOPES, P. S.; SEVERINO, P.; YOSHIDA, C. M. P.; SOUTO, E. B.; DA SILVA, C. F. Chitosan/Copaiba oleoresin films for would dressing application. **International journal of pharmaceutics,** v. 555, p. 146-152, 2019.

[28] DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. Wound dressings - a review. **Biomedicine (Taipei),** v. 5, n. 4, p. 22, 2015.

[29] DOMINGUES, E. A. R.; DE CARVALHO, M. R. F.; DE OLIVEIRA KAIZER, U. A. Adaptação transcultural de um instrumento de avaliação de feridas. **Cogitare Enfermagem,** v. 23, n. 3, p. 54927, 2018.

[30] DONG, R.; GUO, B. Smart wound dressings for wound healing. **Nano Today,** v. 41, p. 101290, 2021.

[31] ESMAEILI, Y.; BIDRAM, E.; BIGHAM, A.; ATARI, M.; NASR AZADANI, R.; TAVAKOLI, M.; SALEHI, S.; MIRHAJ, M.; BASIRI, A.; MIRZAVANDI, Z.; BOSHTAM, M.; RAFIENIA, M.; ZARGAR KHARAZI, A.; KARBASI, S.; SHARIATI, L.; ZARRABI, A. Exploring the evolution of tissue engineering strategies over the past decade: From cell-based strategies to gene-activated matrix. **Alexandria Engineering Journal,** v. 81, p. 137-169, 2023.

[32] FAHIMIRAD, S.; ABTAHI, H.; SATEI, P.; GHAZNAVI-RAD, E.; MOSLEHI, M.; GANJI, A. Wound healing performance of PCL/chitosan based electrospun nanofiber electrosprayed with curcumin loaded chitosan nanoparticles. **Carbohydr Polym,** v. 259, p. 117640, 2021.

[33] GAHARWAR, A. K.; SINGH, I.; KHADEMHOSSEINI, A. Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. **Nature Reviews Materials,** v. 5, n. 9, p. 686-705, 2020.

[34] GALVÃO, A. M. D. N.; DA SILVA, Z. P.; BARBOSA, A. P. F.; DE SOUSA RODRIGUES, C. F. Efeito da estimulação elétrica na cicatrização de feridas cutâneas em Wistar: existe protocolo a ser seguido?(Revisão de estudos experimentais). **Research, Society and Development,** v. 11, n. 1, p. e53311125295-e53311125295, 2022.

[35] GANESAN, T.; SINNIAH, A.; CHIK, Z.; ALSHAWSH, M. A. Punicalagin regulates apoptosis-autophagy switch via modulation of annexin A1 in colorectal cancer. **Nutrients,** v. 12, n. 8, p. 2430, 2020.

[36] GAYDHANE, M. K.; KANUGANTI, J. S.; SHARMA, C. S. Honey and curcumin loaded multilayered polyvinylalcohol/cellulose acetate electrospun nanofibrous mat for wound healing. **Journal of Materials Research,** v. 35, n. 6, p. 600-609, 2020.

[37] GHOVVATI, M.; BOLOURI, K.; GUO, L.; KANEKO, N.; JIN, X.; XU, Y.; HUA, Z.; LEI, Y. Harnessing the Power of Electroconductive Polymers for Breakthroughs in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. **Materials Chemistry Horizons,** v. 2, p. 195-206, 2023.

[38] GOIS, T. D. S.; JESUS, C. V. F. D.; SANTOS, R. J. D.; OLIVEIRA, F. S. D.; FEITOSA, L.; SANTANA, M. F.; SILVA, M. C. D.; SILVA, R. N. D.; TELES, W. D. S. Fisiopatologia da cicatrização em pacientes portadores de diabetes mellitus/Physiopathology of healing in patients with diabetes mellitus. **Brazilian Journal of Health Review,** v. 4, p. 14438-14452, 2021.

[39] GORAIN, B.; PANDEY, M.; LENG, N. H.; YAN, C. W.; NIE, K. W.; KAUR, S. J.; MARSHALL, V.; SISINTHY, S. P.; PANNEERSELVAM, J.; MOLUGULU, N. Advanced drug delivery systems containing herbal components for wound healing. **International journal of pharmaceutics,** v. 617, p. 121617, 2022.

[40] GOVINDARAJU, D. T.; CHEN, C.-H.; SHALUMON, K. T.; KAO, H.-H.; CHEN, J.-P. Bioactive nanostructured scaffold-based approach for tendon and ligament tissue engineering. **Nanomaterials,** v. 13, n. 12, p. 1847, 2023.

[41] HAMEED, A. R.; MAJDOUB, H.; JABRAIL, F. H. Effects of Surface Morphology and Type of Cross-Linking of Chitosan-Pectin Microspheres on Their Degree of Swelling and Favipiravir Release Behavior. **Polymers,** v. 15, n. 15, p. 3173, 2023.

[42] HAN, W.; WANG, S. Advances in hemostatic hydrogels that can adhere to wet surfaces. **Gels,** v. 9, n. 1, p. 2, 2022.

[43] HU, H.; XU, F.-J. Rational design and latest advances of polysaccharide-based hydrogels for wound healing. **Biomaterials Science,** v. 8, n. 8, p. 2084-2101, 2020.

[44] HUSSAIN, Z.; THU, H. E.; RAWAS-QALAJI, M.; NASEEM, M.; KHAN, S.; SOHAIL, M. Recent developments and advanced strategies for promoting burn wound healing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 68, p. 103092, 2022.

[45] KAHKESH, K., HATAMI; BAGHBANTARAGHDARI, Z.; JAMALEDIN, D.; DABBAGH MOGHADDAM, F.; KANEKO, N.; GHOVVATI, M. Synthesis, Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activities of Zinc Ferrite and Copper Ferrite Nanoparticles. **Materials Chemistry Horizons,** v. 2, n. 1, p. 49-56, 2023.

[46] KANNAN, K.; RADHIKA, D.; SADASIVUNI, K. K.; REDDY, K. R.; RAGHU, A. V. Nanostructured metal oxides and its hybrids for photocatalytic and biomedical applications. **Advances in Colloid and Interface Science,** v. 281, p. 102178, 2020.

[47] KHURSHEED, R.; DUA, K.; VISHWAS, S.; GULATI, M.; JHA, N. K.; ALDHAFEERI, G. M.; ALANAZI, F. G.; GOH, B. H.; GUPTA, G.; PAUDEL, K. R.; HANSBRO, P. M.; CHELLAPPAN, D. K.; SINGH, S. K. Biomedical applications of metallic nanoparticles in cancer: Current status and future perspectives. **Biomed Pharmacother,** v. 150, p. 112951, 2022.

[48] KORNBLATT, A. P.; NICOLETTI, V. G.; TRAVAGLIA, A. The neglected role of copper ions in wound healing. **Journal of inorganic biochemistry,** v. 161, p. 1-8, 2016.

[49] KUMAR, S.; YE, F.; DOBRETSOV, S.; DUTTA, J. Chitosan nanocomposite coatings for food, paints, and water treatment applications. **Applied Sciences,** v. 9, n. 12, p. 2409, 2019.

[50] LAM, P. L.; LEE, K. K. H.; WONG, R. S. M.; CHENG, G. Y. M.; BIAN, Z. X.; CHUI, C. H.; GAMBARI, R. Recent advances on topical antimicrobials for skin and soft tissue infections and their safety concerns. **Critical reviews in microbiology,** v. 44, n. 1, p. 40-78, 2018.

[51] LAURANO, R.; BOFFITO, M.; CIARDELLI, G.; CHIONO, V. Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market. **Engineered Regeneration,** v. 3, n. 2, p. 182-200, 2022.

[52] LEI, T.; ZHANG, T.; JU, W.; CHEN, X.; HENG, B. C.; SHEN, W.; YIN, Z. Biomimetic strategies for tendon/ligament-to-bone interface regeneration. **Bioactive materials,** v. 6, n. 8, p. 2491-2510, 2021.

[53] LI; CHEN, J.; SHI, M.; ZHANG, H.; MA, P. X.; GUO, B. Electroactive anti-oxidant polyurethane elastomers with shape memory property as non-adherent wound dressing to enhance wound healing. **Chemical Engineering Journal,** v. 375, p. 121999, 2019.

[54] LI; FU, R.; DUAN, Z.; ZHU, C.; FAN, D. Construction of multifunctional hydrogel based on the tannic acid-metal coating decorated MoS2 dual nanozyme for bacteria-infected wound healing. **Bioactive materials,** v. 9, p. 461-474, 2022.

[55] LI, C.; CHANG, F.; GAO, F.; WANG, Y.; SUN, Z.; ZHAO, L.; YANG, Y.; WANG, H.; DONG, L.; ZHENG, X.; JIANG, Y. Chitosan-based composite film dressings with efficient self-diagnosis and synergistically inflammation resolution for accelerating diabetic wound healing. **Applied Surface Science,** v. 642, p. 158578, 2024.

[56] LIANG, Y.; HE, J.; GUO, B. Functional hydrogels as wound dressing to enhance wound healing. **ACS nano,** v. 15, n. 8, p. 12687-12722, 2021.

[57] LIANG, Y.; LIANG, Y.; ZHANG, H.; GUO, B. Antibacterial biomaterials for skin wound dressing. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences,** v. 17, n. 3, p. 353-384, 2022.

[58] LIU, Q.; ZHANG, A.; WANG, R.; ZHANG, Q.; CUI, D. A review on metal-and metal oxide-based nanozymes: properties, mechanisms, and applications. **Nano-micro letters,** v. 13, p. 1-53, 2021.

[59] LUCA, I.; PEDRAM, P.; MOEINI, A.; CERRUTI, P.; PELUSO, G.; DI SALLE, A.; GERMANN, N. Nanotechnology development for formulating essential oils in wound dressing materials to promote the wound-healing process: a review. **Applied Sciences,** v. 11, n. 4, p. 1713, 2021.

[60] MAKVANDI, P.; JOSIC, U.; DELFI, M.; PINELLI, F.; JAHED, V.; KAYA, E.; ASHRAFIZADEH, M.; ZAREPOUR, A.; ROSSI, F.; ZARRABI, A.; AGARWAL, T.; ZARE, E. N.; GHOMI, M.; KUMAR MAITI, T.; BRESCHI, L.; TAY, F. R. Drug Delivery (Nano)Platforms for Oral and Dental Applications: Tissue Regeneration, Infection Control, and Cancer Management. **Advanced Science (Weinh),** v. 8, n. 8, p. 2004014, 2021.

[61] MONEIM, A. E. A. Evaluating the potential role of pomegranate peel in aluminum-induced oxidative stress and histopathological alterations in brain of female rats. **Biological trace element research,** v. 150, p. 328-336, 2012.

[62] MORADNIA, M.; MOHAMMADKHANI, N.; AZIZI, B.; MOHAMMADI, M.; EBRAHIMPOUR, S.; TABATABAEI-MALAZY, O.; MIRSADEGHI, S.; ALE-EBRAHIM, M. The power of Punica granatum: a natural remedy for oxidative stress and inflammation; a narrative review. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 118243, 2024.

[63] MURPHY, C.; ATKIN, L.; SWANSON, T.; TACHI, M.; TAN, Y. K.; DE CENIGA, M. V.; WEIR, D.; WOLCOTT, R.; ĈERNOHORSKÁ, J.; CIPRANDI, G. Defying hard-to-heal wounds with an early antibiofilm intervention strategy: wound hygiene. **J Wound Care,** v. 29, n. Sup3b, p. S1-S26, 2020.

[64] MUSAIE, K.; ABBASZADEH, S.; NOSRATI-SIAHMAZGI, V.; QAHREMANI, M.; WANG, S.; ESKANDARI, M. R.; NIKNEZHAD, S. V.; HAGHI, F.; LI, Y.; XIAO, B. Metal-coordination synthesis of a natural injectable photoactive hydrogel with antibacterial and blood-aggregating functions for cancer thermotherapy and mild-heating wound repair. **Biomaterials Science,** v. 11, n. 7, p. 2486-2503, 2023.

[65] NETHI, S. K.; DAS, S.; PATRA, C. R.; MUKHERJEE, S. Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. **Biomaterials Science,** v. 7, n. 7, p. 2652-2674, 2019.

[66] NOSAR, M. N.; ZIORA, Z. M. Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. **Carbohydrate polymers,** v. 189, p. 379-398, 2018.

[67] OSMAŁEK, T.; FROELICH, A.; JADACH, B.; TATAREK, A.; GADZIŃSKI, P.; FALANA, A.; GRALIŃSKA, K.; EKERT, M.; PURI, V.; WROTYŃSKA-BARCZYŃSKA, J. Recent advances in polymer-based vaginal drug delivery systems. **Pharmaceutics,** v. 13, n. 6, p. 884, 2021.

[68] OSSA, J. G.; FUSCO, A.; AZIMI, B.; ESPOSITO SALSANO, J.; DIGIACOMO, M.; COLTELLI, M.-B.; DE CLERCK, K.; ROY, I.; MACCHIA, M.; LAZZERI, A. Immunomodulatory Activity of electrospun polyhydroxyalkanoate fiber scaffolds incorporating olive leaf extract. **Applied Sciences,** v. 11, n. 9, p. 4006, 2021.

[69] OUN, A. A.; SHANKAR, S.; RHIM, J.-W. Multifunctional nanocellulose/metal and metal oxide nanoparticle hybrid nanomaterials. **Critical reviews in food science and nutrition,** v. 60, n. 3, p. 435-460, 2020.

[70] OUYANG, Y.; ZHAO, J.; WANG, S. Multifunctional hydrogels based on chitosan, hyaluronic acid and other biological macromolecules for the treatment of inflammatory bowel disease: A review. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 227, p. 505-523, 2022.

[71] PARFEJEVS, V.; DEBBACHE, J.; SHAKHOVA, O.; SCHAEFER, S. M.; GLAUSCH, M.; WEGNER, M.; SUTER, U.; RIEKSTINA, U.; WERNER, S.; SOMMER, L. Injury-activated glial cells promote wound healing of the adult skin in mice. **Nature communications,** v. 9, n. 1, p. 236, 2018.

[72] PAULA, G. A.; COSTA, N. N.; DA SILVA, T. M.; BASTOS, K. A.; IGNACCHITI, M. D. C.; SEVERI, J. A.; OREFICE, R. L.; CARREIRA, L. G.; VILLANOVA, J. C. O.; RESENDE, J. A. Polymeric film containing pomegranate peel extract as a promising tool for the treatment of candidiasis. **Natural Product Research,** v. 37, n. 4, p. 603-607, 2023.

[73] PEIAN, Z.; HAIFENG, J.; PEIJIE, G.; SADEGHNEZHAD, E.; QIANQIAN, P.; TIANYU, D.; TENG, L.; HUANCHUN, J.; JINGGUI, F. Chitosan induces jasmonic acid production leading to resistance of ripened fruit against Botrytis cinerea infection. **Food Chemistry,** v. 337, p. 127772, 2021.

[74] PENG, S.-Y.; LIN, L.-C.; CHEN, S.-R.; FAROOQI, A. A.; CHENG, Y.-B.; TANG, J.-Y.; CHANG, H.-W. Pomegranate extract (POMx) induces mitochondrial dysfunction and apoptosis of oral cancer cells. **Antioxidants,** v. 10, n. 7, p. 1117, 2021.

[75] PERIYASAMY, K. G. K.; ZUO, H.; HE, S. Flexible printed circuit board magnetic micromirror for laser marking/engraving. **Journal of Micromechanics and Microengineering,** v. 29, n. 8, p. 085001, 2019.

[76] PERUMAL, G.; DOBLE, M. Fabrication of Nanostructured Scaffolds for Tissue Engineering Applications. **Nanomaterials and Their Biomedical Applications**, p. 317-334, 2021.

[77] PILAVCI, E.; AYRAN, M.; ULUBAY, D.; KAYA, E.; TINAZ, G.; BINGOL OZAKPINAR, O.; SANCAKLI, A.; GUNDUZ, O. Fabrication and characterization of electrospun GelMA/PCL/CS nanofiber composites for wound dressing applications. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers,** v. 38, n. 1, p. 3-24, 2022.

[78] PIRMORADIAN, A.; BEHSHAD, Y.; SHARIFI, F.; ALIPOUR, S.; JIANG, L.; SABZI, M. Development of Antibiotic Releasing Electrospun Nanofibrous Mats Based on Gelatin. **Materials Chemistry Horizons,** v. 2, p. 185-193, 2023.

[79] PRZEKORA, A. A concise review on tissue engineered artificial skin grafts for chronic wound treatment: can we reconstruct functional skin tissue in vitro? **Cells,** v. 9, n. 7, p. 1622, 2020.

[80] PUIGMAL, A. C.; AYRAN, M.; ULAG, S.; ALTAN, E.; GUNCU, M. M.; AKSU, B.; DURUKAN, B. K.; SASMAZEL, H. T.; PEREZ, R. A.; KOC, E.; O'CALLAGHAN, D.; GUNDUZ, O. Fucoidan-loaded electrospun Polyvinyl-alcohol/Chitosan nanofibers with enhanced antibacterial activity for skin tissue engineering. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials,** v. 148, p. 106163, 2023.

[81] QAYOOM, M.; IRFAN, S.; MALIK, G. F.; SHAH, K. A.; LONE, M. Q.; KUMAR, R. T. R.; DAR, G. N. Modified solution combustion-grown Zn-doped Ni–Mg ferrite nanostructures for room temperature NH3 sensing. **Journal of Materials Science: Materials in Electronics,** v. 33, n. 34, p. 25645-25660, 2022.

[82] RABIEE, N.; IRAVANI, S. MXenes and Their Composites: A Versatile Platform for Biomedical Applications. **Materials Chemistry Horizons,** v. 2, p. 171-184, 2023.

[83] RAHMAN, M. M.; KOH, J.; HONG, K. H. Coloration and multi-functionalization of cotton fabrics using different combinations of aqueous natural plant extracts of onion peel, turmeric root, and pomegranate rind. **Industrial Crops and Products,** v. 188, 2022.

[84] RAINA, N.; PAHWA, R.; THAKUR, V. K.; GUPTA, M. Polysaccharide-based hydrogels: New insights and futuristic prospects in wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 223, p. 1586-1603, 2022.

[85] RASHKI, S.; ASGARPOUR, K.; TARRAHIMOFRAD, H.; HASHEMIPOUR, M.; EBRAHIMI, M. S.; FATHIZADEH, H.; KHORSHIDI, A.; KHAN, H.; MARZHOSEYNI, Z.; SALAVATI-NIASARI, M.; MIRZAEI, H. Chitosan-based nanoparticles against bacterial infections. **Carbohydr Polym,** v. 251, p. 117108, 2021.

[86] RATHER, S.-U.; BAMUFLEH, H. S.; ALHUMADE, H.; TAIMOOR, A. A.; SAEED, U.; AL-ZAHRANI, A. A.; LEMINE, O. M. Morphological, structural, surface, thermal, chemical, and magnetic properties of Al-doped nanostructured copper ferrites. **Ceramics International,** v. 49, n. 12, p. 20261-20272, 2023.

[87] RIBEIRO, E. R. F. R.; CORREA, L. B.; RICCI-JUNIOR, E.; SOUZA, P. F. N.; DOS SANTOS, C. C.; DE MENEZES, A. S.; ROSAS, E. C.; BHATTARAI, P.; ATTIA, M. F.; ZHU, L.; ALENCAR, L. M. R.; SANTOS-OLIVEIRA, R. Chitosan-graphene quantum dot based active film as smart wound dressing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 80, p. 104093, 2023.

[88] SABBAGH, F.; KIM, B. S. Recent advances in polymeric transdermal drug delivery systems. **Journal Control Release,** v. 341, p. 132-146, 2022.

[89] SETIA, A.; MEHATA, A. K.; MALIK, A. K.; VISWANADH, M. K.; MUTHU, M. S. Theranostic magnetic nanoparticles: synthesis, properties, toxicity, and emerging trends for biomedical applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 81, p. 104295, 2023.

[90] SHAHBAZI, Y.; SHAVISI, N. Characterization of active nanochitosan film containing natural preservative agents. **Nanomedicine Research Journal,** v. 3, n. 2, p. 109-116, 2018.

[91] SHAHID, M. A.; ALI, A.; UDDIN, M. N.; MIAH, S.; ISLAM, S. M.; MOHEBBULLAH, M.; JAMAL, M. S. I. Antibacterial wound dressing electrospun nanofibrous material from polyvinyl alcohol, honey and Curcumin longa extract. **Journal of Industrial Textiles,** v. 51, n. 3, p. 455-469, 2020.

[92] SHARIATZADEH, F., JONIDI ; CURRIE, S.; LOGSETTY, S.; SPIWAK, R.; LIU, S. Enhancing wound healing and minimizing scarring: A comprehensive review of nanofiber technology in wound dressings. **Progress in Materials Science,** v. 147, p. 101350, 2025.

[93] SILVA, K. O. G.; DO NASCIMENTO, G. M. A. P.; DE OLIVEIRA, K. S.; DE OLIVEIRA, J. R. S.; DA SILVA, J. Í. M. A influência da nicotina no processo de cicatrização de feridas The influence of nicotine on the wound healing process. **Brazilian Journal of Development,** v. 7, n. 8, p. 80403-80410, 2021.

[94] SINGH; SINGH, J. P.; KAUR, A.; SINGH, N. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (Punica granatum L.) peel: A review. **Food Chemistry,** v. 261, p. 75-86, 2018.

[95] SU, J.; LI, J.; LIANG, J.; ZHANG, K.; LI, J. Hydrogel preparation methods and biomaterials for wound dressing. **Life,** v. 11, n. 10, p. 1016, 2021.

[96] SUKRI, S. N. A. M.; SHAMELI, K.; MEI-THENG WONG, M.; TEOW, S.-Y.; CHEW, J.; ISMAIL, N. A. Cytotoxicity and antibacterial activities of plant-mediated synthesized zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Punica granatum (pomegranate) fruit peels extract. **Journal of Molecular Structure,** v. 1189, p. 57-65, 2019.

[97] TAMBOLI, Q. Y.; PATANGE, S. M.; MOHANTA, Y. K.; SHARMA, R.; ZAKDE, K. R. Green synthesis of cobalt ferrite nanoparticles: an emerging material for environmental and biomedical applications. **Journal of Nanomaterials,** v. 2023, p. 15, 2023.

[98] TAVAKOLI, S.; KLAR, A. S. Advanced hydrogels as wound dressings. **Biomolecules,** v. 10, n. 8, p. 1169, 2020.

[99] TOTTOLI, E. M.; DORATI, R.; GENTA, I.; CHIESA, E.; PISANI, S.; CONTI, B. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics,** v. 12, n. 8, p. 735, 2020.

[100] UMAR, A. K.; BUTARBUTAR, M.; SRIWIDODO, S.; WATHONI, N. Film-forming sprays for topical drug delivery. **Drug Design, Development and Therapy,** v. 14, p. 2909-2925, 2020.

[101] VENUSOVA, E.; KOLESAROVA, A.; HORKY, P.; SLAMA, P. Physiological and immune functions of punicalagin. **Nutrients,** v. 13, n. 7, p. 2150, 2021.

[102] VIMBELA, G. V.; NGO, S. M.; FRAZE, C.; YANG, L.; STOUT, D. A. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. **International journal of nanomedicine,** v. 12, p. 3941-3965, 2017.

[103] VUČIĆ, V.; GRABEŽ, M.; TRCHOUNIAN, A.; ARSIĆ, A. Composition and potential health benefits of pomegranate: a review. **Current pharmaceutical design,** v. 25, n. 16, p. 1817-1827, 2019.

[104] WAFA, B. A.; MAKNI, M.; AMMAR, S.; KHANNOUS, L.; HASSANA, A. B.; BOUAZIZ, M.; ES-SAFI, N. E.; GDOURA, R. Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety Punica granatum L. extracts against Salmonella enterica (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. **International Journal of Food Microbiology** v. 241, p. 123-131, 2017.

[105] WANG, H.; XU, Z.; LI, Q.; WU, J. Application of metal-based biomaterials in wound repair. **Engineered Regeneration,** v. 2, p. 137-153, 2021.

[106] WANG, T.; YI, W.; ZHANG, Y.; WU, H.; FAN, H.; ZHAO, J.; WANG, S. Sodium alginate hydrogel containing platelet-rich plasma for wound healing. **Colloids Surf B Biointerfaces,** v. 222, p. 113096, 2023.

[107] WANG, W.; LU, K.-J.; YU, C.-H.; HUANG, Q.-L.; DU, Y.-Z. Nano-drug delivery systems in wound treatment and skin regeneration. **Journal of nanobiotechnology,** v. 17, n. 1, p. 1-15, 2019.

[108] WANG, Y.; GALLEGOS, J. L.; HASKELL-RAMSAY, C.; LODGE, J. K. Effects of chronic consumption of specific fruit (berries, citrus and cherries) on CVD risk factors: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **European Journal of Nutrition,** v. 60, p. 615-639, 2021.

[109] WOJCIK, M.; KAZIMIERCZAK, P.; BENKO, A.; PALKA, K.; VIVCHARENKO, V.; PRZEKORA, A. Superabsorbent curdlan-based foam dressings with typical hydrocolloids properties for highly exuding wound management. **Materials Science and Engineering: C,** v. 124, p. 112068, 2021.

[110] XIAO, S.; FAKHRI, A.; JANANI, B. J. Synthesis of spinel Tin ferrite decorated on Bismuth ferrite nanostructures for synergetic photocatalytic, superior drug delivery, and antibacterial efficiencies. **Surfaces and Interfaces,** v. 27, p. 101490, 2021.

[111] XU, B.; LI, A.; WANG, R.; ZHANG, J.; DING, Y.; PAN, D.; SHEN, Z. Elastic Janus film for wound dressings: Unidirectional biofluid transport and effectively promoting wound healing. **Advanced Functional Materials,** v. 31, n. 41, p. 2105265, 2021.

[112] XU, J.; CAO, K.; LIU, X.; ZHAO, L.; FENG, Z.; LIU, J. Punicalagin regulates signaling pathways in inflammation-associated chronic diseases. **Antioxidants,** v. 11, n. 1, p. 29, 2021.

[113] XU, X.; GUO, Y.; ZHAO, J.; HE, S.; WANG, Y.; LIN, Y.; WANG, N.; LIU, Q. Punicalagin, a PTP1B inhibitor, induces M2c phenotype polarization via up-regulation of HO-1 in murine macrophages. **Free Radical Biology and Medicine,** v. 110, p. 408-420, 2017.

[114] XU, X.; YIN, P.; WAN, C.; CHONG, X.; LIU, M.; CHENG, P.; CHEN, J.; LIU, F.; XU, J. Punicalagin inhibits inflammation in LPS-induced RAW264. 7 macrophages via the suppression of TLR4-mediated MAPKs and NF-κB activation. **Inflammation,** v. 37, p. 956-965, 2014.

[115] YAN, H.; GULIMIRE, A.; ZHU, J.; LIANG, H.; GU, Z. Punicalagin suppresses LPS-induced inflammatory responses in murine macrophages via JAK/STAT signaling pathway and zymosan-induced mice paw edema. **Indian. J. Pharm. Educ. Res,** v. 55, p. 550-555, 2021.

[116] YAN, X.; FANG, W.-W.; XUE, J.; SUN, T.-C.; DONG, L.; ZHA, Z.; QIAN, H.; SONG, Y.-H.; ZHANG, M.; GONG, X. Thermoresponsive in situ forming hydrogel with sol–gel irreversibility for effective methicillin-resistant Staphylococcus aureus infected wound healing. **ACS nano,** v. 13, n. 9, p. 10074-10084, 2019.

[117] YANG, Y.; LIU, Y.; SONG, L.; CUI, X.; ZHOU, J.; JIN, G.; BOCCACCINI, A. R.; VIRTANEN, S. Iron oxide nanoparticle-based nanocomposites in biomedical application. **Trends in Biotechnology,** v. 41, p. 1471-1487, 2023.

[118] YANG, Y.; ZHANG, Y.; YAN, Y.; JI, Q.; DAI, Y.; JIN, S.; LIU, Y.; CHEN, J.; TENG, L. A sponge-like double-layer wound dressing with chitosan and decellularized bovine amniotic membrane for promoting diabetic wound healing. **Polymers,** v. 12, n. 3, p. 535, 2020.

[119] YAZARLU, O.; IRANSHAHI, M.; KASHANI, H. R. K.; RESHADAT, S.; HABTEMARIAM, S.; IRANSHAHY, M.; HASANPOUR, M. Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. **Pharmacological research,** v. 174, p. 105841, 2021.

[120] YE, J.; HOU, F.; CHEN, G.; ZHONG, T.; XUE, J.; YU, F.; LAI, Y.; YANG, Y.; LIU, D.; TIAN, Y. Novel copper-containing ferrite nanoparticles exert lethality to MRSA by disrupting MRSA cell membrane permeability, depleting intracellular iron ions, and upregulating ROS levels. **Frontiers in Microbiology,** v. 14, p. 1023036, 2023.

[121] YE, Z.; DENG, Z.; ZHANG, L.; CHEN, J.; WANG, G.; WU, Z. The structure of copper ferrite prepared by five methods and its catalytic activity on lignin oxidative degradation. **Materials Research Express,** v. 7, n. 3, p. 035007, 2020.

[122] YU, Y.; ZHENG, X.; LIU, X.; ZHAO, J.; WANG, S. Injectable carboxymethyl chitosan-based hydrogel for simultaneous anti-tumor recurrence and anti-bacterial applications. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 230, p. 123196, 2023.

[123] YUSEFI, M.; SHAMELI, K.; ALI, R. R.; PANG, S.-W.; TEOW, S.-Y. Evaluating Anticancer Activity of Plant-Mediated Synthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Punica Granatum Fruit Peel Extract. **Journal of Molecular Structure,** v. 1204, p. 127539, 2020.

[124] ZAMANI, M.; AGHAJANZADEH, M.; JASHNANI, S.; SHAHANGIAN, S. S.; SHIRINI, F. Hyaluronic acid coated spinel ferrite for combination of chemo and photodynamic therapy: Green synthesis, characterization, and in vitro and in vivo biocompatibility study. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 219, p. 709-720, 2022.

[125] ZHANG, H.; SONG, Y.; NENGZI, L.-C.; GOU, J.; LI, B.; CHENG, X. Activation of persulfate by a novel magnetic CuFe2O4/Bi2O3 composite for lomefloxacin degradation. **Chemical Engineering Journal,** v. 379, p. 122362, 2020.

[126] ZHANG, Z.; ZHAO, J.; CHEN, Z.; WU, H.; WANG, S. A molybdenum-based nanoplatform with multienzyme mimicking capacities for oxidative stress-induced acute liver injury treatment. **Inorganic Chemistry Frontiers,** v. 10, n. 4, p. 1305-1314, 2023.

[127] ZHAO, P.; GU, H.; MI, H.; RAO, C.; FU, J.; TURNG, L.-S. Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. **Frontiers of Mechanical Engineering,** v. 13, n. 1, p. 107-119, 2017.

[128] ZHONG, Y.; XIAO, H.; SEIDI, F.; JIN, Y. Natural polymer-based antimicrobial hydrogels without synthetic antibiotics as wound dressings. **Biomacromolecules,** v. 21, n. 8, p. 2983-3006, 2020.

[129] ZHU, Y.; ZHANG, Y.; WU, H.; WANG, S.; LI, X. An oxidative polymerized carboxymethyl cellulose hydrogel for the combined anti-tumor recurrence. **Journal of Materials Science,** v. 58, n. 1, p. 369-382, 2023.

[130] ZÖLLER, K.; TO, D.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Biomedical applications of functional hydrogels: Innovative developments, relevant clinical trials and advanced products. **Biomaterials,** v. 312, p. 122718, 2025.

Capítulo 3

Spirulina: uma promissora alternativa natural com múltiplas aplicações biomédicas

Gleydis Manalig Pereira Dantas
Iuri Laurindo de Oliveira
Danyelle Garcia Guedes
Meirilany Rozeno Costa
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Resumo: As aplicações biomédicas de fármacos naturais têm ganhado destaque crescente devido aos efeitos adversos associados aos medicamentos sintéticos. Nesse contexto, a spirulina se destaca como uma opção promissora, devido às suas propriedades excepcionais. Esta revisão objetiva destacar as diversas aplicações biomédicas da spirulina e incentivar mais pesquisas para explorar seu verdadeiro potencial terapêutico. A metodologia escolhida para contemplar este trabalho foi o método" Methodi Ordinatio". As publicações mais relevantes foram identificadas com base no índice InOrdinatio, que considera o fator de impacto do periódico, o ano e o número de citações da publicação, foram escolhidas as publicações com índice superior a 37. Vários estudos demonstraram sua eficácia no tratamento de câncer, diabetes, além de suas potentes ações anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas e antivirais. Sendo assim, essas investigações são muito importantes pois podem acarretar a futura aplicação clínica de um excelente medicamento natural à base de spirulina livre de efeitos indesejados.

Palavras-chaves: Fármaco natural, Spirulina, atividade antioxidante.

1. INTRODUÇÃO

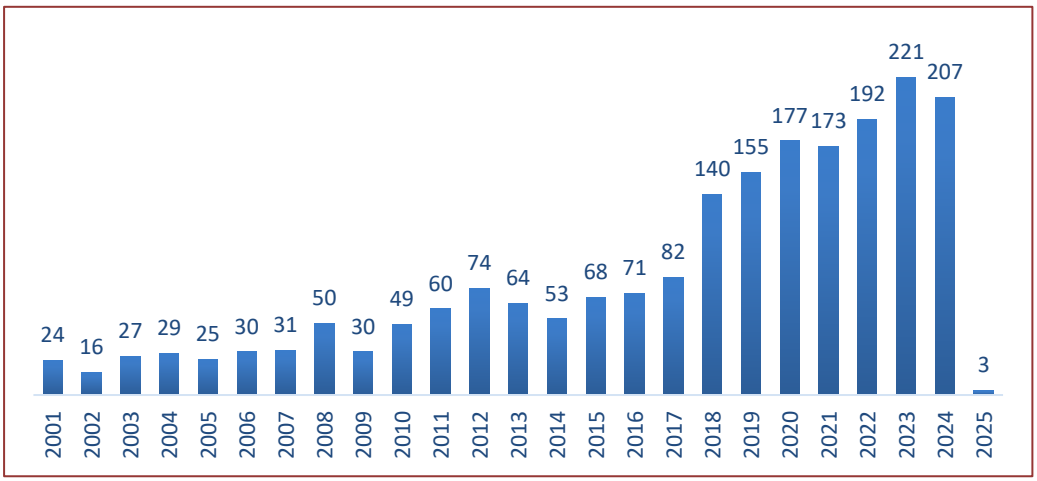
A spirulina é uma microalga multifuncional amplamente utilizada em diversas aplicações biomédicas, incluindo o tratamento de certos tipos de câncer como, pulmão e mama. As microalgas são microrganismos capazes de realizar fotossíntese, gerando metabólitos primários e secundários que participam do metabolismo. A spirulina, em particular, possui grandes concentrações de proteínas, vitaminas, minerais e compostos bioativos (Ladjal-Ettoumi *et al.*, 2024).

O farmaco natural tem o potencial de prevenir ou inibir o câncer em humanos e animais. Estudos in vitro demonstraram resultados significativos, como o aumento da atividade enzimática no núcleo celular e a síntese de reparo do DNA (Mahmoud *et al.*, 2021). Além disso, a spirulina é amplamente utilizada na nutrição animal e como alimento funcional, devido ao seu alto teor de proteínas e à capacidade de fortalecer o sistema imunológico (Piñero Estrada *et al.*, 2001; Han *et al.*, 2021).

A Spirulina platensis (sp), contém cerca de 60 a 70 % de proteínas e 15 a 20 % de polissacarídeos em peso seco. Essas proteínas incluem uma variedade de aminoácidos essenciais ao corpo humano, enquanto os polissacarídeos ácidos extraídos exibem atividades quimioprotetoras e radioprotetoras, podendo ser potenciais complementos na terapia do câncer (Cai, Zhao, *et al.*, 2022). Além disso, a spirulina contém vitaminas como a vitamina C e β-caroteno, ácidos graxos insaturados como o ácido linoleico, pigmentos como a clorofila a, e micronutrientes como sódio, potássio e cálcio (Xu *et al.*, 2024). Além da *Spirulina platensis*, também é estudada a *Spirulina maxima*.

A Figura 1, representa a evolução dos trabalhos realizados com Spirulina nos últimos anos, conforme a busca avançada na base de dados *Science Direct* com a palavra-chave: "spirulina". É possível observar uma crescente busca por mais estudos a partir do ano de 2018, com o pico em 2023.

Figura 1 - Estudos sobre a Spirulina nos últimos anos, base de dados *Science Direct*.



Analisando a figura 1, é possível observar que, desde 2001 até o presente, diversos estudos demonstraram múltiplas propriedades da spirulina. Isso reflete uma crescente busca por investigar e compreender suas funções biológicas, bem como suas diversas

aplicações. Conforme apresentado no Quadro 1, a seguir, a spirulina apresenta grande interesse biomédico devido sua ampla aplicabilidade.

Quadro 1 - Estudos acerca das funções biológicas da spirulina

Funções Biológicas	Título	Autores
Anti-inflamatórias	Efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da Spirulina contra hepatotoxicidade em ratos.	(Al-Qahtani e Binobead, 2019)
Antioxidantes	Atividade antioxidante de diferentes frações do extrato proteico de *Spirulina platensis*	(Piñero Estrada *et al.*, 2001)
Antitumorais	Spirulina inibe carcinoma hepatocelular ativando p53 e apoptose, e suprimindo estresse oxidativo e angiogênese	(Mahmoud *et al.*, 2021)
Antitrombótica	Propriedades antitrombóticas dos extratos de spirulina contra o fator de ativação plaquetária e a trombina	(Koukouraki *et al.*, 2020)
Antiviral	Potencial terapêutico da Spirulina para o tratamento do HIV	(Kwei *et al.*, 2008)
Saúde intestinal	1. Estrutura do oligossacarídeo de Spirulina e efeito na microbiota fecal. 2. Efeito preventivo da Spirulina na saúde intestinal. 3. Spirulina como superprebiótico, aumentando o efeito do Lactobacillus casei.	(Asmaz e Seyidoglu, 2022; Cai, Yi, *et al.*, 2022; Elwakil *et al.*, 2024)
Fortalecimento do sistema imunológico	Spirulina ativa o sistema imunológico humano e aumenta a produção de interferon.	(Hirahashi *et al.*, 2002)
Terapia em diabéticos	Suplementação de spirulina previne hiperglicemia e danos hepáticos em ratos diabéticos.	(Gargouri *et al.*, 2016)
Anticâncer	Novo conceito de administração de medicamentos anticâncer com Spirulina platensis enriquecida com selênio.	(Riva e Oreal, 2013)
Prevenção de lesões em órgãos	1. Efeito da Spirulina contra danos renais induzidos por mercúrio em camundongos. 2. Prevenção da remodelação cardíaca e fibrilação atrial com terapia antioxidante.	(Sharma *et al.*, 2003; Mccarty, 2010)

Ao observar o Quadro 1, é notório que a spirulina possui diversas aplicações, como prevenção de lesões em órgãos, ação anticâncer, suplementação para prevenir hiperglicemia em diabéticos, nutrição rica para fortalecer o sistema imunológico, além de apresentar atividades anti-inflamatório, antioxidante, antitrombótico e até mesmo antiviral, e melhorias na saúde intestinal. Tudo isso a torna uma escolha mais saudável e muito promissora.

A spirulina é um biomaterial interessante devido à sua excelente biocompatibilidade, baixo custo, superfície modificável e propriedades fisiológicas únicas (Zhong *et al.*, 2021). Consequentemente, devido à sua notável biocompatibilidade, valor nutritivo e diversos atributos biológicos excepcionais, as microalgas se destacam como um potencial "elixir" no campo da medicina (Huang *et al.*, 2024).

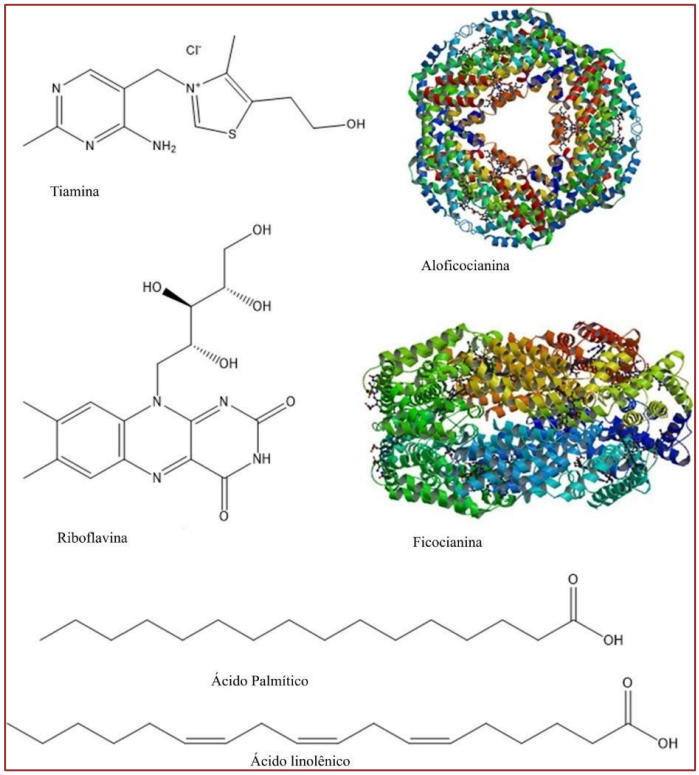
Portanto, o objetivo desta revisão é trazer mais visibilidade para a spirulina devido suas excelentes propriedades e assim poder intensificar a busca por mais estudos acerca do tema, para realização desta revisão foi utilizada três bases de dados: *PubMed, BVS e Science Direct.*

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SPIRULINA

A Spirulina *platensis* apresenta grande interesse medicinal e nutricional devido à sua composição, afinal é rica em nutrientes como: proteínas, minerais, carboidratos e fitopigmentos, por isso, pode ser utilizada como suplemento alimentar. Seus elementos bioativos tem alta atividade antioxidante como por exemplo: polifenóis, flavonóides, ficobiliproteínas, carotenóidese e clorofila (Bitam e Aissaoui, 2020). Além disso, desde o século XVI que a spirulina é consumida e conhecida é o gênero mais conhecido, cujo nome comercial foi dado para descrever principalmente duas espécies de cianobactérias: Arthrospira platensis e Arthrospira maxima (Lafarga *et al.*, 2020). Como mostra a figura 2, a spirulina não tem uma estrutura definida, a sua composição é a junção de alguns nutrientes ilustrados a seguir.

Figura 2 - Composição da spirulina, adaptado de (Lafarga *et al.*, 2020)



2.2. CULTIVO

A spirulina é amplamente cultivada em diversos locais do mundo, apesar do seu primeiro estabelecimento ter sido no México em 1973, o maior polo de produção

industrial é na China mais precisamente na parte sul do país, onde a produção anual de spirulina chega a 4000 toneladas, 35% são da China. A sua faixa de temperatura ideal é de 30 a 35 °C, devido a isso, grande parte da produção de Spirulina estão distribuídas em áreas tropicais ou subtropicais (Yang *et al.*, 2022).

A luz e a temperatura são de extrema importância para o crescimento de microalgas. Quando cultivadas em regiões temperadas, a temperatura é ótima para o crescimento, levando em consideração que a luz é o principal fator limitante nessas regiões. O cultivo em larga escala geralmente envolve lagoas ao ar livre, o que não torna o cultivo dispendioso (Raeisossadati *et al.*, 2019)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para elaborar esta revisão, foi realizada uma busca avançada nas seguintes bases de dados: *Science Direct, BVS e PubMed* utilizando a palavra-chave "spirulina". Como o objetivo deste artigo de revisão narrativa era incluir todos os achados sobre o tema ao longo do tempo, não houve restrições quanto ao ano das publicações. Algumas publicações relacionadas ao uso da cianobactéria Spirulina em aplicações biomédicas foram selecionadas de acordo com a metodologia "*Methodi Ordinatio*". Dessa forma, as publicações mais relevantes foram identificadas com base no índice InOrdinatio, que considera o fator de impacto do periódico, o ano e o número de citações da publicação. Foram escolhidas as publicações com índice superior a 37. Além disso, outros estudos citados nas publicações encontradas também foram incluídos aqui, caso fossem considerados achados úteis e complementares.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. TRATAMENTO DE DIABETES

Diabetes é um distúrbio metabólico e histológico complexo, caracterizado por defeitos na produção ou ação da insulina, que desencadeiam uma cascata de processos fisiopatológicos, incluindo estresse oxidativo, dano a tecidos saudáveis, peroxidação lipídica e alterações no nível celular. A presença elevada de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a diminuição da atividade antioxidante são características marcantes do diabetes mellitus, contribuindo para a progressão da doença e suas complicações. Diabéticos submetidos a um experimento demonstraram uma redução significativa nas atividades das enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa reduzida (GSH) em tecidos hepáticos e renais. No entanto, com a administração de Spirulina, uma cianobactéria rica em antioxidantes, houve um aumento da atividade dessas enzimas e uma reversão dos danos causados pelo estresse oxidativo, com a peroxidação lipídica retornando a níveis quase normais. Esses resultados sugerem que a Spirulina pode desempenhar um papel crucial na mitigação do estresse oxidativo em diabéticos (Bitam e Aissaoui, 2020).

No estudo de Ekeuku *et al.* (2022) investigaram os efeitos da Spirulina em ratos diabéticos induzidos por estreptozocina e observaram melhorias significativas na formação óssea. Especificamente, houve um aumento no número de osteócitos e osteoblastos, além de uma maior resistência a lesões ósseas. Curiosamente, também foi registrada uma redução nos níveis séricos de cálcio e fósforo, sugerindo que a Spirulina pode prevenir a fragilidade óssea associada ao diabetes mellitus tipo 2. Estes achados são

particularmente relevantes, pois indicam que a Spirulina pode reduzir o risco de fraturas e melhorar a saúde óssea de pacientes diabéticos, abordando uma complicação comum da doença.

No trabalho de Hu *et al.* (2022) foi desenvolvido um hidrogel de carboximetilquitosana com Spirulina para avaliar a cicatrização de feridas em camundongos diabéticos, que geralmente apresentam dificuldades na cicatrização devido às complicações associadas ao diabetes. Os resultados mostraram que o tratamento com Spirulina aumentou a camada de colágeno nas feridas e acelerou significativamente o processo de cicatrização. Indicando que a Spirulina pode ter um efeito terapêutico importante na recuperação de lesões em diabéticos, ajudando a superar um dos maiores desafios clínicos.

A análise dos estudos revela que, embora todos demonstrem efeitos benéficos da Spirulina, é essencial considerar as limitações metodológicas e as variáveis não controladas que podem influenciar os resultados. Por exemplo, os estudos utilizaram diferentes modelos animais e dosagens de Spirulina, o que pode afetar a comparabilidade dos resultados. Além disso, a necessidade de estudos clínicos em humanos é evidente para confirmar a eficácia e segurança da Spirulina no tratamento de complicações do diabetes.

4.2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes desempenham um papel fundamental na proteção do organismo contra o estresse oxidativo, atuando de diversas maneiras para eliminar ou neutralizar os radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio (EROs) estabilizando-os e impedindo que causem danos celulares pois podem causar danos às células e tecidos. Eles atuam como agentes quelantes de metais, sequestrando íons metálicos que podem catalisar reações de formação de radicais livres. Além disso, os antioxidantes decompõem o peróxido de hidrogênio, que é um dos EROs, e atuam como inibidores de enzimas. Outra função essencial dos antioxidantes é a doação de hidrogênio e elétrons, que ajuda a neutralizar os radicais livres, estabilizando-os e impedindo que causem danos celulares. Desta forma, os antioxidantes, que favorecem significativamente para a desintoxicação do organismo, protegendo-o contra o dano oxidativo e ajudando a manter o equilíbrio homeostático (Abdel-Daim *et al.*, 2013).

O estudo de Kumar *et al.* (2022) investigou o potencial antioxidante da Spirulina utilizando extratos aquoso e etanólicos, avaliando a atividade de várias enzimas e moléculas antioxidantes, incluindo superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx), glutationa reduzida (GSH), vitamina C e vitamina E. Os resultados demonstraram que a atividade antioxidante da Spirulina foi significativa em ambos os extratos, mas foi particularmente mais pronunciada no extrato aquoso. Indicando que a Spirulina, especialmente em sua forma úmida, possui um alto potencial antioxidante, o que pode contribuir para a neutralização de radicais livres e a proteção contra danos oxidativos.

Para (Zeitoun *et al.*, (2022), a suplementação com Spirulina foi eficaz na redução dos efeitos estressantes do estresse oxidativo nas funções fisiológicas do esperma, melhorando, assim, a qualidade do sêmen de garanhões árabes para fertilização posterior. O estudo também observou um efeito benéfico na motilidade espermática, além de melhorias nos parâmetros de velocidade e na atividade antioxidante dos espermatozóides, especialmente após a criopreservação. Esses resultados positivos

foram atribuídos ao aumento das atividades antioxidantes, que ajudaram a proteger os espermatozoides contra danos oxidativos. A concentração ideal de Spirulina para obter os melhores resultados foi de 6 mg/100 mL, pois apresentou as melhores características do sêmen pós-descongelamento em comparação com outros testes de fertilidade. A Spirulina pode ser um suplemento promissor para melhorar a qualidade do esperma e os resultados de fertilidade, particularmente em garanhões árabes.

A análise dos estudos citados revela que a Spirulina possui um potencial antioxidante significativo, capaz de contribuir para a proteção contra danos oxidativos em diferentes contextos biológicos. No entanto, é importante considerar algumas limitações e a necessidade de mais investigações. Por exemplo, o estudo de Kumar et al. (2022) mostrou que o extrato aquoso de Spirulina teve uma atividade antioxidante mais pronunciada, mas não esclareceu as possíveis diferenças na biodisponibilidade dos compostos antioxidantes entre os extratos aquosos e etanólicos. Além disso, estudos em humanos são necessários para confirmar esses resultados e determinar a dosagem ideal e os possíveis efeitos a longo prazo da suplementação com Spirulina.

No caso do estudo de Zeitoun et al. (2022), embora os resultados sejam promissores, a pesquisa foi limitada a um modelo animal específico (garanhões árabes), o que pode não ser diretamente aplicável a outras espécies ou mesmo a humanos. A variabilidade individual entre os animais e a ausência de dados sobre os efeitos adversos em longo prazo também são aspectos que precisam ser considerados. Portanto, enquanto os resultados preliminares sugerem que a Spirulina é benéfica como suplemento antioxidante, estudos adicionais são essenciais para validar esses achados e explorar seu potencial terapêutico em diferentes contextos clínicos.

4.3. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

A inflamação é uma interação complexa entre células e fatores externos que pode ocorrer em qualquer tecido devido a lesões traumáticas, infecciosas, tóxicas, pós-isquêmicas ou autoimunes (Nathan, 2002). A spirulina age como agente anti-inflamatório devido produzir grandes quantidades de oxigênio através da fotossíntese. Isso promove a renovação tecidos e consequentemente acelera o processo anti-inflamatório (Jiang *et al.*, 2022)

No estudo de Abu-Taweel *et al.* (2019) o extrato *de Spirulina* (SE) derivado de *A. platensis* foi utilizado como um remédio natural inofensivo para o tratamento de inflamação e dor. Os resultados foram bem satisfatórios onde exibiu efeito anti-inflamatório significativo, também apresentou efeito analgésico periférico e central, indicando um potencial medicamentos alternativos aos opioides, que levam à náusea e ao vômito (Abu-Taweel *et al.*, 2019). Resultados importantes, pois oferecem uma alternativa aos tratamentos convencionais de inflamação e dor, que muitas vezes vêm acompanhados de efeitos colaterais adversos.

Józsa *et al.* (2020) investigaram a aplicação da Spirulina no tratamento de acne, uma inflamação dérmica. Foi formulado um creme contendo substâncias ativas naturais biocompatíveis contra a acne vulgar, com Spirulina platensis (SP) em pó sendo combinada com diferentes tipos de surfactantes não iônicos, como Tefose 63, éster de sacarose SP 70, Polissorbato 60 e Cremophor A6:A25 (CR). As preparações que continham o agente emulsificante éster de sacarose SP 70 apresentaram boa dissolução e a maior atividade antioxidante contra o estresse oxidativo induzido por UVB. Além disso, a formulação

também teve efeito antimicrobiano contra Cutibacterium acnes e Staphylococcus aureus, e causou baixa toxicidade nas células. O creme contendo Spirulina platensis, como formulação tópica natural, pode ser uma alternativa eficaz para tratar a acne com menos efeitos colaterais e sem resistência aos antibióticos.

Percebe-se que a Spirulina apresenta diversos benefícios anti-inflamatórios, analgésicos e dermatológicos. No entanto, é importante considerar algumas limitações e a necessidade de mais pesquisas. Por exemplo, os estudos mencionados focam principalmente em modelos animais ou formulações específicas, o que pode limitar a generalização dos resultados para humanos. Além disso, a variabilidade nas metodologias empregadas, como diferentes dosagens e formas de administração, pode influenciar a comparabilidade e a reprodutibilidade dos achados. Assim, futuros estudos clínicos em humanos são necessários para confirmar a eficácia e segurança da Spirulina, bem como para estabelecer protocolos padronizados de uso.

4.4. ATIVIDADE ANTIVIRAL

No campo de pesquisa antiviral o estudo de Lokapirnasari *et al.* (2016) examinou o efeito da Spirulina sp. como aditivo alimentar para necrose miocárdica e leucócitos de frangos infectados pelo vírus da gripe aviária H5N1. O tratamento com Spirulina sp. resultou em um aumento no número de leucócitos, indicando que a Spirulina pode ser usada como aditivo alimentar para aumentar a imunidade em frangos de corte. Esses resultados sugerem que a Spirulina pode desempenhar um papel importante na melhoria da saúde animal e na prevenção de doenças virais em aves. A Spirulina e suas propriedades antivirais vem sendo explorada contra uma variedade de vírus que afetam tanto animais quanto humanos. Devido a presença de vários compostos bioativos, como ficocianina, sulfoglicolipídeos e polissacarídeos sulfatados, que têm demonstrado atividades antivirais significativas em estudos in vitro e in vivo.

O estudo de Hayashi *et al.* (1996) demonstrou que os polissacarídeos sulfatados derivados da Spirulina inibiram a replicação do vírus do herpes simplex tipo 1 (HSV-1) e do vírus da imunodeficiência humana (HIV) em culturas celulares. A ação desses polissacarídeos está relacionada à sua capacidade de impedir a entrada dos vírus nas células hospedeiras, bloqueando a fusão do envelope viral com a membrana celular.

Outro estudo realizado por Hernández-Corona *et al.* (2002) investigou o efeito da Spirulina contra o vírus da hepatite C (HCV). Os resultados mostraram que a ficocianina, um pigmento presente na Spirulina, apresentou uma atividade inibitória significativa contra a replicação do HCV em culturas celulares. Este estudo destacou o potencial da Spirulina como uma alternativa natural para o tratamento de infecções virais crônicas, como a hepatite C.

Em relação ao vírus da gripe, além do estudo de Lokapirnasari *et al.* (2016), Pugh *et al.* (2015) também relataram que a Spirulina exibiu atividade antiviral contra o vírus influenza A (H1N1) em modelos animais. A suplementação com Spirulina aumentou a resposta imune dos animais, resultando em uma menor carga viral e em uma recuperação mais rápida das infecções gripais.

Embora os resultados sejam promissores, é importante considerar que muitos dos estudos sobre a atividade antiviral da Spirulina foram conduzidos in vitro ou em modelos animais. A extrapolação desses resultados para humanos deve ser feita com cautela, e mais pesquisas clínicas são necessárias para confirmar a eficácia e a segurança da

Spirulina como agente antiviral em humanos. Além disso, a variabilidade na composição da Spirulina, dependendo da cepa e das condições de cultivo, pode influenciar os resultados, destacando a necessidade de padronização dos extratos utilizados.

A Spirulina apresenta um potencial significativo como agente antiviral, anti-inflamatório e antioxidante, com aplicações promissoras na saúde animal e humana. No entanto, estudos adicionais são necessários para validar esses achados e explorar plenamente o potencial terapêutico da Spirulina.

4.5. PREVENÇÃO DE LESÕES EM ÓRGÃOS

A capacidade da Spirulina de prevenir lesões em órgãos tem sido amplamente investigada em diversos estudos, destacando seu potencial terapêutico e profilático. No trabalho de Karadeniz *et al.* (2009) foi demonstrado que o tratamento com Spirulina platensis e Panax ginseng preveniu as alterações histopatológicas no fígado causadas pela exposição ao cádmio. Este tratamento evitou lesões que normalmente incluem um grau severo de degeneração vacuolar, infiltração gordurosa e fibrose. Os resultados sugerem que a Spirulina pode ser eficaz na prevenção e tratamento de doenças hepáticas, protegendo o fígado contra danos causados por toxinas ambientais como o cádmio.

A pesquisa de Khalil *et al.* (2020) mostrou que a administração oral de Spirulina resultou na restauração da morfologia perturbada dos tecidos hepáticos e renais de ratos. A administração prévia e concomitante da Spirulina protegeu esses tecidos dos efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos induzidos por furano. Isso indica que a Spirulina pode ser usada como uma estratégia profilática e terapêutica eficaz para minimizar o risco de danos hepáticos e renais, destacando seu potencial em intervenções de saúde preventiva e em tratamentos de intoxicações.

Além disso, Khalil *et al.* (2015) relataram que a Spirulina reverteu a toxicidade em vários órgãos mediada por medicamentos e produtos químicos, incluindo a resposta imune alterada e os danos hepáticos induzidos pelo herbicida atrazina em peixes Cyprinus carpio. Este estudo evidenciou que a Spirulina possui propriedades desintoxicantes que podem ser aplicadas na proteção de organismos aquáticos contra poluentes ambientais, e possivelmente, na mitigação de efeitos adversos em humanos expostos a substâncias tóxicas.

A eficácia da Spirulina na prevenção de lesões em órgãos é sustentada por estudos que demonstram sua capacidade de proteger tecidos hepáticos e renais contra danos induzidos por toxinas. No entanto, é crucial realizar uma análise crítica desses achados para compreender melhor as limitações e o potencial de aplicação clínica da Spirulina.

Embora os modelos animais ofereçam insights valiosos, é necessária a realização de ensaios clínicos em humanos para confirmar a segurança e a eficácia da Spirulina em populações humanas. Além disso, enquanto os estudos destacam os efeitos protetores da Spirulina contra toxinas específicas como o cádmio e o furano, é importante investigar seu potencial contra uma gama mais ampla de toxinas e agentes estressores ambientais. A compreensão dos mecanismos subjacentes à ação protetora da Spirulina, como a modulação de vias antioxidantes e anti-inflamatórias, também é fundamental para desenvolver aplicações terapêuticas mais direcionadas. Portanto, a Spirulina apresenta um promissor potencial na prevenção de lesões em órgãos, particularmente no fígado e nos rins, devido às suas propriedades antioxidantes e desintoxicantes. No entanto, requer ensaios clínicos rigorosos e a padronização dos extratos de Spirulina.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Spirulina, uma cianobactéria amplamente estudada, demonstrou um vasto potencial terapêutico em diversas aplicações biomédicas. Seu papel como alimento multifuncional é respaldado por suas propriedades imunomoduladoras, que contribuem significativamente para o fortalecimento do sistema imunológico e a promoção da saúde geral.

Os estudos analisados destacam a capacidade antioxidante da Spirulina. Kumar *et al.* (2022) evidenciaram que a Spirulina possui uma potente atividade antioxidante, particularmente em sua forma aquosa, neutralizando eficazmente radicais livres e protegendo contra danos oxidativos. Esta propriedade é crucial para a prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e para a manutenção do equilíbrio homeostático do organismo.

Adicionalmente, a Spirulina possui propriedades anti-inflamatórias robustas, como demonstrado por Jiang *et al*. (2022) e Abu-Taweel *et al.* (2019). Estes estudos mostraram que a Spirulina não só reduz a inflamação, mas também melhora condições dolorosas, oferecendo uma alternativa segura e eficaz aos opioides, que frequentemente causam efeitos colaterais adversos.

Józsa *et al*. (2020) expandiram o potencial terapêutico da Spirulina para o tratamento de condições dermatológicas, como a acne. A formulação de cremes contendo Spirulina mostrou-se eficaz na redução de inflamações dérmicas, oferecendo uma alternativa natural e menos invasiva para o tratamento de problemas de pele.

No campo antiviral, Lokapirnasari *et al*. (2016) demonstraram que a Spirulina pode aumentar a imunidade de aves infectadas pelo vírus da gripe aviária H5N1, sugerindo que sua aplicação pode ser estendida para melhorar a resposta imunológica em outras espécies, incluindo humanos.

A capacidade da Spirulina de prevenir lesões em órgãos foi corroborada por Karadeniz *et al*. (2009) e Khalil *et al*. (2020). Estes estudos indicaram que a Spirulina pode proteger tecidos hepáticos e renais contra danos induzidos por toxinas, sugerindo seu uso potencial como uma intervenção profilática eficaz para minimizar os riscos de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade.

Além disso, Khalil *et al*. (2015) mostraram que a Spirulina pode reverter a toxicidade em vários órgãos, protegendo contra os efeitos adversos de substâncias químicas como o herbicida atrazina. Estes achados reforçam o potencial da Spirulina como um agente desintoxicante natural.

Apesar dos resultados promissores, é crucial que futuras pesquisas se concentrem em estudos clínicos bem desenhados para confirmar esses benefícios em humanos. Além disso, a investigação sobre os mecanismos de ação específicos da Spirulina pode proporcionar uma compreensão mais profunda de seus efeitos terapêuticos e ajudar na formulação de produtos mais eficazes. Sendo assim, a Spirulina possui um vasto potencial terapêutico, destacando-se por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antivirais. A contínua investigação sobre esta cianobactéria é essencial para maximizar seu uso potencial e promover melhorias significativas na saúde e bem-estar humanos.

REFERÊNCIAS

[1] ABDEL-DAIM, M. M.; ABUZEAD, S. M. M.; HALAWA, S. M. Protective role of Spirulina platensis against acute deltamethrin-induced toxicity in rats. **PLoS One,** v. 8, n. 9, p. e72991, 2013.

[2] ABU-TAWEEL, G. M.; MOHSEN G, A.-M.; ANTONISAMY, P.; AROKIYARAJ, S.; KIM, H.-J.; KIM, S.-J.; PARK, K. H.; KIM, Y. O. Spirulina consumption effectively reduces anti-inflammatory and pain related infectious diseases. **Journal of Infection and Public Health,** v. 12, n. 6, p. 777-782, 2019.

[3] AL-QAHTANI, W. H.; BINOBEAD, M. A. Anti-inflammatory, antioxidant and antihepatotoxic effects of Spirulina platensis against d-galactosamine induced hepatotoxicity in rats. **Saudi Journal of Biological Sciences,** v. 26, n. 4, p. 647-652, 2019.

[4] ASMAZ, E. D.; SEYIDOGLU, N. The prevention role of Spirulina platensis (Arthrospira platensis) on intestinal health. **Food Science and Human Wellness,** v. 11, n. 5, p. 1342-1346, 2022.

[5] BITAM, A.; AISSAOUI, O. Chapter 32 - Spirulina platensis, oxidative stress, and diabetes. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Diabetes (Second Edition)**: Academic Press, 2020. p. 325-331. ISBN 978-0-12-815776-3.

[6] CAI, B.; YI, X.; HAN, Q.; PAN, J.; CHEN, H.; SUN, H.; WAN, P. Structural characterization of oligosaccharide from Spirulina platensis and its effect on the faecal microbiota in vitro. **Food Science and Human Wellness,** v. 11, n. 1, p. 109-118, 2022.

[7] CAI, B.; ZHAO, X.; LUO, L.; WAN, P.; CHEN, H.; PAN, J. Structural characterization, and in vitro immunostimulatory and antitumor activity of an acid polysaccharide from Spirulina platensis. **International journal of biological macromolecules,** v. 196, p. 46-53, 2022.

[8] EKEUKU, S. O.; CHONG, P. N.; CHAN, H. K.; MOHAMED, N.; FROEMMING, G. R. A.; OKECHUKWU, P. N. Spirulina supplementation improves bone structural strength and stiffness in streptozocin-induced diabetic rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine,** v. 12, n. 3, p. 225-234, 2022.

[9] ELWAKIL, B. H.; ESKANDRANI, A.; EL-KADY, H.; SHAHIN, Y. H.; AWAAD, A. K. Spirulina platensis as a super prebiotic to enhance the antibacterial effect of Lactobacillus casei. **South African Journal of Botany,** v. 173, p. 417-429, 2024.

[10] GARGOURI, M.; MAGNÉ, C.; EL FEKI, A. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by Spirulina supplementation. **Nutrition Research,** v. 36, n. 11, p. 1255-1268, 2016.

[11] HAN, P.; LI, J.; ZHONG, H.; XIE, J.; ZHANG, P.; LU, Q.; LI, J.; XU, P.; CHEN, P.; LENG, L.; ZHOU, W. Anti-oxidation properties and therapeutic potentials of spirulina. **Algal Research,** v. 55, p. 102240, 2021.

[12] HAYASHI, K.; HAYASHI, T.; KOJIMA, I. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from Spirulina platensis: in vitro and ex vivo evaluation of anti-herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. **AIDS Res Hum Retroviruses,** v. 12, n. 15, p. 1463-71, 1996.

[13] HERNÁNDEZ-CORONA, A.; NIEVES, I.; MECKES, M.; CHAMORRO, G.; BARRON, B. L. Antiviral activity of Spirulina maxima against herpes simplex virus type 2. **Antiviral Res,** v. 56, n. 3, p. 279-85, 2002.

[14] HIRAHASHI, T.; MATSUMOTO, M.; HAZEKI, K.; SAEKI, Y.; UI, M.; SEYA, T. Activation of the human innate immune system by Spirulina: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of Spirulina platensis. **Int Immunopharmacol,** v. 2, n. 4, p. 423-34, 2002.

[15] HU, H.; ZHONG, D.; LI, W.; LIN, X.; HE, J.; SUN, Y.; WU, Y.; SHI, M.; CHEN, X.; XU, F.; ZHOU, M. Microalgae-based bioactive hydrogel loaded with quorum sensing inhibitor promotes infected wound healing. **Nano Today,** v. 42, p. 101368, 2022.

[16] HUANG, H.; LANG, Y.; ZHOU, M. A comprehensive review on medical applications of microalgae. **Algal Research,** v. 80, p. 103504, 2024.

[17] JIANG, P.; MENG, J.; ZHANG, L.; HUANG, L.; WEI, L.; BAI, Y.; LIU, X.; LI, S. Purification and anti-inflammatory effect of selenium-containing protein fraction from selenium-enriched Spirulina platensis. **Food Bioscience,** v. 45, p. 101469, 2022.

[18] JÓZSA, L.; UJHELYI, Z.; VASVÁRI, G.; SINKA, D.; NEMES, D.; FENYVESI, F.; VÁRADI, J.; VECSERNYÉS, M.; SZABÓ, J.; KALLÓ, G.; VASAS, G.; BÁCSKAY, I.; FEHÉR, P. **Formulation of Creams Containing Spirulina Platensis Powder with Different Nonionic Surfactants for the Treatment of Acne Vulgaris**. Molecules. 25 2020.

[19] KARADENIZ, A.; CEMEK, M.; SIMSEK, N. The effects of Panax ginseng and Spirulina platensis on hepatotoxicity induced by cadmium in rats. **Ecotoxicol Environ Saf,** v. 72, n. 1, p. 231-235, 2009.

[20] KHALIL, S. R.; ABD-ELHAKIM, Y. M.; SELIM, M. E.; AL-AYADHI, L. Y. Apitoxin protects rat pups brain from propionic acid-induced oxidative stress: The expression pattern of Bcl-2 and Caspase-3 apoptotic genes. **NeuroToxicology,** v. 49, p. 121-131, 2015.

[21] KHALIL, S. R.; SALEM, H. F. A.; METWALLY, M. M. M.; EMAD, R. M.; ELBOHI, K. M.; ALI, S. A. Protective effect of Spirulina platensis against physiological, ultrastructural and cell proliferation damage induced by furan in kidney and liver of rat. **Ecotoxicol Environ Saf,** v. 192, p. 110256, 2020.

[22] KOUKOURAKI, P.; TSOUPRAS, A.; SOTIROUDIS, G.; DEMOPOULOS, C. A.; SOTIROUDIS, T. G. Antithrombotic properties of Spirulina extracts against platelet-activating factor and thrombin. **Food Bioscience,** v. 37, p. 100686, 2020.

[23] KUMAR, A.; RAMAMOORTHY, D.; VERMA, D. K.; KUMAR, A.; KUMAR, N.; KANAK, K. R.; MARWEIN, B. M.; MOHAN, K. Antioxidant and phytonutrient activities of Spirulina platensis. **Energy Nexus,** v. 6, p. 100070, 2022.

[24] KWEI, C. K.; LEWIS, D. M.; KING, K. D.; DONOHUE, W.; NEILAN, B. A. Therapeutic potential of Spirulina for the treatment of HIV. **J Biotechnol,** v. 136, p. S580, 2008.

[25] LADJAL-ETTOUMI, Y.; HAMADI, M.; HADJER DOUIK, L.; CHERIFI, Z.; NAZIR, A. Physicochemical, functional, and nutraceutical properties of Spirulina and Chlorella biomass: A comparative study. **Algal Research,** v. 81, p. 103561, 2024.

[26] LAFARGA, T.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G. Spirulina for the food and functional food industries. **Food Research International,** v. 137, p. 109356, 2020.

[27] LOKAPIRNASARI, W. P.; YULIANTO, A. B.; LEGOWO, D.; AGUSTONO. The Effect of Spirulina as Feed Additive to Myocardial Necrosis and Leukocyte of Chicken with Avian Influenza (H5N1) Virus Infection. **Procedia Chemistry,** v. 18, p. 213-217, 2016.

[28] MAHMOUD, Y. I.; SHEHATA, A. M. M.; FARES, N. H.; MAHMOUD, A. A. Spirulina inhibits hepatocellular carcinoma through activating p53 and apoptosis and suppressing oxidative stress and angiogenesis. **Life Sciences,** v. 265, p. 118827, 2021.

[29] MCCARTY, M. F. Practical prevention of cardiac remodeling and atrial fibrillation with full-spectrum antioxidant therapy and ancillary strategies. **Medical Hypotheses,** v. 75, n. 2, p. 141-147, 2010.

[30] NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature,** v. 420, n. 6917, p. 846-852, 2002.

[31] PIÑERO ESTRADA, J. E.; BERMEJO BESCÓS, P.; VILLAR DEL FRESNO, A. M. Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract. **Il Farmaco,** v. 56, n. 5, p. 497-500, 2001.

[32] PUGH, N. D.; EDWALL, D.; LINDMARK, L.; KOUSOULAS, K. G.; IYER, A. V.; HARON, M. H.; PASCO, D. S. Oral administration of a Spirulina extract enriched for Braun-type lipoproteins protects mice against influenza A (H1N1) virus infection. **Phytomedicine,** v. 22, n. 2, p. 271-6, 2015.

[33] RAEISOSSADATI, M.; MOHEIMANI, N. R.; PARLEVLIET, D. Red and blue luminescent solar concentrators for increasing Arthrospira platensis biomass and phycocyanin productivity in outdoor raceway ponds. **Bioresource Technology,** v. 291, p. 121801, 2019.

[34] RIVA, P.; OREAL, P. P03.17 - Anticancer Drug and Selenium-Enriched Spirulina Platensis: A New Concept for Drug Delivery and High Anti-Proliferative Activitym. **Annals of Oncology,** v. 24, p. i23, 2013.

[35] SHARMA, M. K.; KUMAR, M.; KUMAR, A. 526 Modifying effect of spirulina fusiforms against mercury induced renal damages in Swiss Albino mice. **Toxicology Letters,** v. 144, p. s141, 2003.

[36] XU, J.; LUO, G.; ZHANG, Y.; LV, K.; WANG, S.; SHAN, Z.; GAO, X.; LI, G. Improving the antioxidant activity and bioaccessibility of resveratrol using Spirulina platensis as vehicle. **Journal of Functional Foods,** v. 118, p. 106241, 2024.

[37] YANG, Z.; XU, B.; LIU, J.; ZHAN, J.; SONG, L. Dynamic changes of growth and physiological parameters of Spirulina cultivated outdoors—a case study in Spirulina Industrial Park in Inner Mongolia, China. **Journal of Applied Phycology,** v. 34, n. 3, p. 1163-1175, 2022.

[38] ZEITOUN, M. M.; ATEAH, M. A.; ALMAIMAN, A. T.; MANSOUR, M. M. Spirulina Supplementation to the Semen Extender Influences the Quality and Antioxidant Parameters of Chilled or Cryopreserved Arabian Stallion Spermatozoa. **Journal of Equine Veterinary Science,** v. 118, p. 104108, 2022.

[39] ZHONG, D.; DU, Z.; ZHOU, M. Algae: a natural active material for biomedical applications. **View,** v. 2, n. 4, p. 20200189, 2021.

Capítulo 4

Uma breve revisão sobre a dopagem de beta fosfato tricálcico (β−TCP) com ferro (Fe)

Diógenes de Moura Júnior
Ycaro Breno Alves de Almeida
José Rosa de Souza Farias
Valdeci Bosco dos Santos
Veruska do Nascimento Simões
Aluska do Nascimento Simões Braga

Resumo: Este trabalho revisa as pesquisas sobre β-TCP dopado com íons Fe^{2+}, publicadas entre 2016 e 2022, com foco na produção científica anual, principais países contribuidores e métodos de síntese predominantes. Observou-se uma concentração geográfica dos estudos em países como Estados Unidos, China e Índia, com destaque para as metodologias de síntese em estado sólido e precipitação química, que conferem ao material características como homogeneidade e controle do tamanho de partículas. A dopagem com íons Fe^{2+} além de melhorar a biocompatibilidade do β-TCP, também adiciona propriedades magnéticas, viabilizando aplicações avançadas, como a hipertermia antitumoral. A análise aponta para uma estabilização no volume de publicações recentes, sugerindo que inovações no campo são necessárias para ampliar as aplicações biomédicas desse material. Além disso, o estudo sugere que países com infraestrutura científica, como o Brasil, possuem potencial para contribuir significativamente com novas abordagens e avanços em aplicações biomédicas.

Palavras-chaves: Revisão. Biocerâmicas. β-TCP . Dopagem. Ferro.

1. INTRODUÇÃO

Defeitos ósseos são frequentemente considerados problemas clínicos relevantes, associados a altas taxas de morbidade e mortalidade. Dessa forma, a engenharia tecidual tem se destacado nos últimos anos como uma área altamente promissora para solucionar tais questões. Buscando melhorar a funcionalidade e tornar a medicina regenerativa mais acessível, pesquisadores têm se dedicado a desenvolver materiais e técnicas de fabricação avançados que possam desencadear respostas celulares específicas em nível molecular, direcionando adesão celular, proliferação, diferenciação e síntese da matriz extracelular. Contudo, muitos materiais ainda apresentam restrições em suas aplicações biomédicas devido à sua toxicidade, retenção e baixa biodegradabilidade (Amini *et al*., 2012; Bagheri *et al*., 2020; Kumar *et al*., 2021).

Por apresentarem fórmula química semelhante à da fase mineral do tecido ósseo, os materiais mais comumente utilizados na área da biomedicina como ossos sintéticos são as cerâmicas inorgânicas à base de fosfatos de cálcio [TCP, $Ca_3(PO_4)_2$], em particular a hidroxiapatita [HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] e o β-fosfato tricálcico (β-TCP), amplamente utilizadas em diversas aplicações biomédicas (Gul *et al*., 2020; Mala e Ruby Celsia, 2018; Pina *et al*., 2018; Wang *et al*., 2021). Tendo o β-TCP se destacado como material de suporte mais promissor devido à sua alta capacidade osteoindutora, excelente biocompatibilidade, boa reabsorção e baixa solubilidade em meios fisiológicos (Bohner *et al*., 2020; Fernandez-Yague *et al*., 2015; Park *et al*., 2012). Dessa forma, diversos estudos têm investigado o impacto da incorporação de diferentes elementos, como Ag, Sr, Zn, Fe, Mn e Mg, na estrutura cristalina do β-TCP, com o objetivo de alterar as propriedades físico-químicas e, assim, melhorar tanto suas propriedades mecânicas quanto suas propriedades biológicas e bioativas (Cuneyt Tas *et al*., 2007; Macedo *et al*., 2022; Wang *et al*., 2021; Yuan *et al*., 2020).

O ferro é um elemento fundamental para o organismo humano, mineral vital para a homeostase celular, sendo necessário para várias funções biológicas importantes, como: produção de hemoglobina e mioglobina, funcionamento adequado do sistema imunológico, síntese de DNA, produção de neurotransmissores no cérebro, entre outros processos biológicos essenciais para o funcionamento do corpo humano (Grotto, 2010; Rodrigues *et al*., 2011). Nesse contexto, a dopagem do β-TCP com ferro tem se mostrado uma estratégia promissora para melhorar suas propriedades, tanto mecânicas quanto biológicas. Além disso, essa dopagem pode melhorar a estabilidade térmica da fase β-TCP em altas temperaturas, fator essencial no processo de síntese desse biomaterial (Gomes *et al*., 2017; Kokubo *et al*., 2003; Sinusaite *et al*., 2020; Uskoković *et al*., 2019).

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão acerca da produção do β-TCP dopado com Fe, avaliando os efeitos dessa modificação e seu controle.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. FOSFATOS DE CÁLCIO

Fosfatos de cálcio são compostos constituídos por três elementos químicos principais: cálcio, fósforo e oxigênio; além do hidrogênio, que também pode ser encontrado como constituinte do ânion. As diferenças nas proporções entre estes elementos, assim como o fator de hidratação, resultam na existência de uma série de compostos que podem ser classificados de acordo com o ânion fosfato presente, como orto (PO_4^{3-}), meta (PO_3), piro ($P_2O_7^{4-}$) e poli [$(PO_3)_n$] (Epple *et al*., 2010).

Tais compostos podem ser naturais ou sintéticos abrangendo uma ampla família de materiais cerâmicos. Destacam-se entre os biomateriais e as biocerâmicas por serem altamente biocompatíveis e, quando em contato com os tecidos vivos, sofrem dissolução, disponibilizando íons cálcio (Ca^{2+}) e hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}) para o meio (Dorozhkin, 2011).

Uma classificação desses fosfatos em função da razão Ca/P está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação dos fosfatos de cálcio.

Material	Fórmula química	Razão Ca/P	Solubilidade (25°C, $g.L^{-1}$)	Grupo espacial
Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$	0,5	~18	Triclínico
Fosfato Monocálcico Anidro (MCPA)	$Ca(H_2PO_4)_2$	0,5	~17	Triclínico
Fosfato Dicálcico Dihidratado (DCPD)	$CaHPO_4.2H_2O$	1,0	~0,088	Monoclínico
Fosfato Dicálcico Anidro (DCPA)	$CaHPO_4$	1,0	~0,048	Triclínico
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$Ca_3(PO_4)_2.nH_2O$	1,2-2,2	-	-
Fosfato Octacálcico (OCP)	$Ca_8(HPO_4)_2.(PO)_4$ $5H_2O$	1,33	~0,0081	Triclínico
α- Fosfato Tricálcico (α-TCP)	α-$Ca_3(PO_4)$	1,5	~0,0025	Monoclínico
β-Fosfato Tricálcico	β-$Ca_3(PO_4)$	1,5	~0,0005	Romboédrica
Hidroxiapatita (HAp)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67	~0,0003	Hexagonal
Fluorapatita (FAp)	$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$	1,67	~0,0002	Hexagonal
Fosfato Tetracálcico (TTCP)	$Ca_4(PO_4)_2O$	2,0	~0,0007	Monoclínico

Fonte: Adaptado de Dorozhkin, 2013.

A razão em mol entre os elementos cálcio e fósforo (Ca/P) nos fosfatos de cálcio influencia diretamente a solubilidade do material, sendo um fator crucial para determinar o tipo de aplicação. Nesse sentido, a absorção ou biodegradação dos fosfatos de cálcio depende basicamente de três fatores (Okuda *et al.*, 2008; Kasaj *et al.*, 2008):

1. Dissolução físico-química, que depende da solubilidade do material e do pH do ambiente onde o material se encontra;
2. Desintegração física, na qual o material é feito em pequenas partes pelo ataque químico preferencial nos contornos de grãos; e
3. Fatores biológicos, como a fagocitose, que causa mudanças locais na concentração de pH do meio.

As cerâmicas de fosfato de cálcio constituem uma classe de materiais bioativos utilizados para reparar e aumentar o tecido ósseo por apresentarem propriedades como a osteocondução, capaz de suportar a adesão e a proliferação de osteoblastos, e a osteoindução, responsável por estimular a neoformação do osso. Devido à sua similaridade com os tecidos duros, os compostos de fosfato de cálcio são muito utilizados na área clínica como biomateriais para substituição óssea, enxerto ou recobrimento de próteses metálicas. Além das aplicações como biomateriais, os fosfatos de cálcio também

fornecem o suprimento de fosfatos que são extensamente utilizados na produção de fertilizantes, colunas cromatográficas, indústria de alimentos, na indústria farmacêutica, em cremes dentais, entre outras aplicações (Moskalewicz *et al*., 2021; Zanelato *et al*., 2020).

Vale ressaltar ainda que, além da semelhança química e cristalográfica com o osso humano, as biocerâmicas à base de fosfato de cálcio se destacam entre as demais por conta de alguns fatores, tais como ausência de toxicidade, biocompatibilidade, não sendo reconhecidas como materiais estranhos no corpo e o mais importante, exibem comportamento bioativo e se integram ao tecido vivo pelos mesmos processos ativos na remodelação de ossos saudáveis. Isso leva a uma ligação físico-química íntima entre os implantes e os ossos, denominada osteointegração. Outras principais razões para o sucesso do uso dos biomateriais de fosfato de cálcio para substituição óssea é a facilidade de manipulação e moldagem, sem necessidade de forma prévia ao implante, adaptando-se totalmente à forma da cavidade óssea e por não aquecerem durante o processo de endurecimento, evitando a necrose tecidual no sítio de implantação (Farias *et al*., 2020).

Com relação as biocerâmicas de fosfatos de cálcio a hidroxiapatita (HAp), o beta fosfato tricálcico (β-TCP) e o alfa fosfato tricálcico (α-TCP) se destacam entre as demais por conta de suas excelentes propriedades de osteointegração e biocompatibilidade com o tecido hospedeiro. A hidroxiapatita é mais cristalina do que a fase mineral dos ossos e dentes, o que a torna bastante estável e, portanto, não se degrada no momento da implantação. O α-TCP é um polimorfo do fosfato tricálcico (TCP) obtido em altas temperaturas e que apresenta elevada resistência mecânica, porém não apresenta um desempenho favorável em relação à implantação in vivo, pois possui elevada taxa de solubilidade em meio fisiológico, além de ocasionar tensões por diferença de densidade. O β-TCP é bastante utilizado por conta de suas propriedades de biocompatibilidade, osteocondutividade, atoxidade e excelente taxa de biodegradabilidade. Além disso, o β-TCP reabsorvível é prontamente substituído por osso novo, e sua solubilidade é próxima à do mineral ósseo, onde é reabsorvido por células osteoclásticas que provocam uma acidificação local que leva à dissolução do β-TCP (Bohner *et al*., 2020; Elliott. 1994).

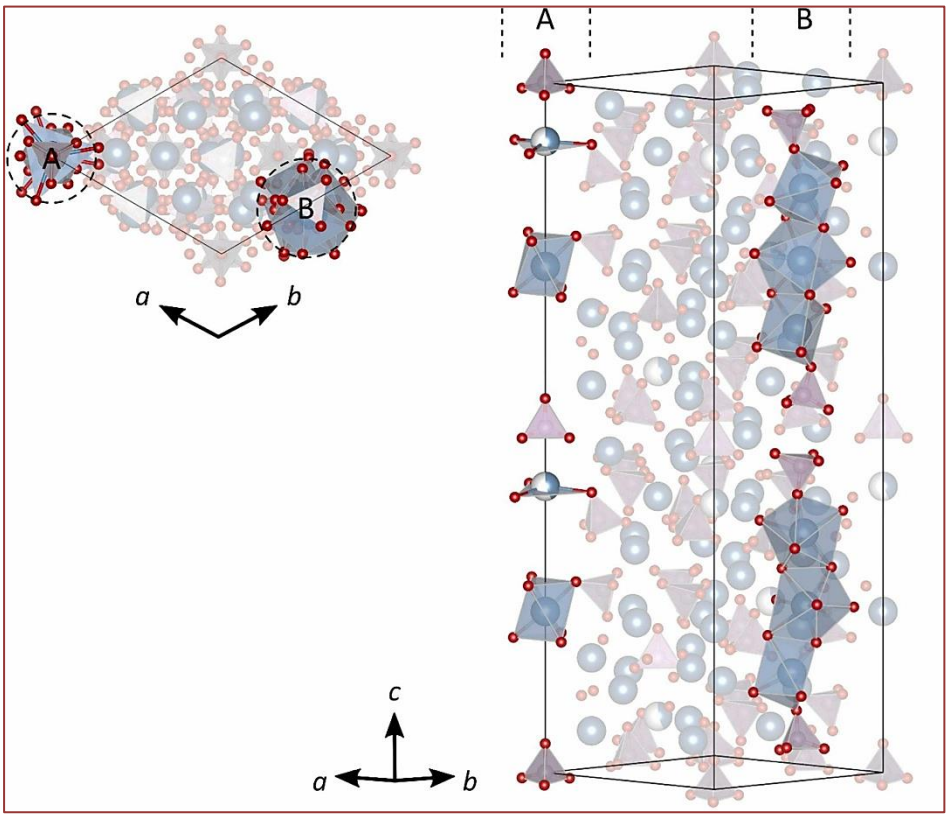
2.2. BETA FOSFATO TRICÁLCICO (B-TCP)

As cerâmicas de fosfato de cálcio são materiais promissores para aplicações biomédicas devido às suas características mineralógicas, morfológicas e de microestrutura, além de apresentarem boa biocompatibilidade. Dentro da categoria de fosfatos de cálcio, há diferentes polimorfos e estruturas cristalinas ou amorfas que tipicamente formam uma família de componentes chamados apatitas, geralmente classificados de acordo com sua razão molar Ca/P, a qual varia de 0,5 a 2,2. Entre as biocerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] (HAp) estequiométrica, com relação molar cálcio/fósforo (Ca/P) = 1,67, e os fosfatos tricálcicos [$Ca_3(PO_4)_2$] (TCP), α-fosfato tricálcico (α -TCP) e β-fosfato tricálcico (β-TCP) com relação molar Ca/P igual a 1,5, se destacam em particular. (Dorozhkin, 2016; Park *et al*., 2008). No entanto, comparados à HAp, os polimorfos de fosfato tricálcico possuem uma taxa de absorção pelo organismo mais elevada, o que os torna excelentes opções para a produção de materiais como cimentos ósseos e andaimes para engenharia de tecidos (Mofakhami e Salahinejad, 2021).

Considerando-se isso, é possível identificar a sucessão do fosfato tricálcico em quatro formas cristalinas distintas. A primeira fase é a romboédrica, conhecida como fase beta (β-TCP), que se mantém estável até temperaturas próximas a 1125°C. A segunda fase é a monoclínica, chamada de fase alfa (α-TCP), que é estabilizada no intervalo de 1125°C a 1430°C. Há ainda outras duas fases, a primeira delas é conhecida como super alfa (α'-TCP) e se forma em temperaturas muito elevadas, acima de 1430°C. A outra fase é a gama (γ-TCP), sendo formada em pressões consideráveis (Guastaldi e Aparecida, 2010). Devido às restrições condicionais das últimas duas fases e à alta solubilidade apresentada pela fase, o β-TCP tem sido cada vez mais estudado como um substituto para o enxerto ósseo devido à sua excelente bioatividade e capacidade de biodegradação óssea (Dong *et al*., 2002; Tanaka *et al*., 2008). Sua solubilidade e composição são próximas à do mineral ósseo e, como resultado, o β-TCP não é solúvel em condições fisiológicas, mas é reabsorvido por células, geralmente osteoclastos, consequentemente, apresentando não só excelente biocompatibilidade, como também alto potencial osteoindutor, superando as limitações e dificuldades de outros biocerâmicos, como HAp e sulfato de cálcio (Bhawal *et al*., 2016; Knabe *et al*., 2019; Okada *et al*., 2016; Valentim, 2018).

Como apontado previamente, o β-TCP é uma fase de alta temperatura que é tipicamente obtida pela conversão térmica de fosfato de cálcio amorfo (ACP) ou hidroxiapatita deficiente em cálcio (Ca-def HAp), sendo obtida a partir de temperaturas acima de 650 – 750 °C e se mantendo estável até temperaturas moderadas de 1125 ~ 1150 °C. Contudo, essas temperaturas dependem muito da pureza do pó, bem como das suas condições de preparo, podendo assim variar em uma faixa muito ampla na presença de impurezas elementares como Mg^{2+}, Zn^{2+}, Sr^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+} e Fe^{2+}/Fe^{3+} (Lakrat *et al*., 2023; Schatkoski *et al*., 2021; Somers *et al*., 2021). Foi constatado por meio de estudos que a adição de teores mínimos de ferro, na faixa de 0,5 a 1,0% em mol, é capaz de impedir a conversão da fase β-TCP em α-TCP em temperaturas de sinterização de 1250°C (Vahabzadeh e Bose, 2017). Além disso, mesmo com o β-TCP quimicamente puro sendo tradicionalmente relatado na literatura com uma estrutura cristalina romboédrica, grupo espacial R3c e configuração trigonal, suas dimensões de células unitárias acabam variando de estudo para estudo: 10,35 - 10,53 Å tanto para o eixo “a” quanto para o eixo “b” e 36,89 - 37,63 Å para o eixo “c”. Essas grandes variações provavelmente se devem também pela presença de impurezas elementares nas estruturas cristalinas analisadas (Bohner *et al*., 2020; Liang *et al*., 2010; Matsunaga *et al*., 2015; Sblendorio *et al*., 2023; Yoshida *et al*., 2005). A Figura 2 exibe a estrutura cristalina do β-TCP.

Figura 1: Representação esquemática da estrutura cristalina do β-TCP



Fonte: Sblendorio *et al*., 2023.

Assim, o fosfato tricálcico tem sido, há várias décadas, de importância geral em muitos campos interdisciplinares da ciência, instigando extensos estudos do mesmo sob diversas perspectivas, indo desde mudanças químicas e estruturais até morfológicas. A principal finalidade desses estudos é aperfeiçoar tanto suas propriedades de interesse biológico quanto suas propriedades mecânicas, com o intuito de ampliar ainda mais a diversidade de aplicações desses materiais (Guastaldi e Aparecida, 2010; Liu *et al*., 2008; Šupová, 2015; Yuan *et al*., 2020).

2.3. BETA FOSFATO TRICÁLCICO DOPADO COM FERRO

Os estudos sobre substituições iônicas nos fosfatos de cálcio estão se tornando cada vez mais relevantes e cruciais, visto que boa parte dos tecidos biológicos, como os ossos e dentes, são compostos por uma fase mineral de apatita contendo uma variedade de outros elementos, incluindo cromo, manganês, ferro, silício, entre outros. Elementos essenciais para o desenvolvimento e metabolismo adequado dos tecidos ósseos, tornando essas pesquisas ainda mais relevantes (Medvecký *et al*., 2006; Renaudin *et al*., 2017). Além disso, a estrutura tanto da HAp quanto dos seus derivados, como o β-TCP, apresentam alta susceptibilidade para receber a adição de elementos dopantes em sua rede cristalina (Afshar *et al*., 2003). Com isso, a incorporação de pequenas quantidades de íons metálicos em fosfatos de cálcio tem se apresentado uma opção viável simples e econômica para melhorar o seu desempenho não apenas mecânico, como também biológico e,

consequentemente, melhorando seu desempenho em aplicações biomédicas (Marchi *et al*., 2007).

Existem inúmeros compostos vantajosos que são utilizados no processo de dopagem dos fosfatos de cálcio e seus derivados. No entanto, tratando-se especificamente tanto da HA quanto do β-TCP, alguns dos íons mais comumente utilizados como rota de melhoria nas propriedades gerais do material incluem: manganês (Mn^{2+}), zinco (Zn^{2+}) e ferro (Fe^{3+}) (Farias *et al*., 2022). Estudos apontam que a presença de íons Mn^{2+} na estrutura do β-TCP pode melhorar suas propriedades mecânicas e resistência à corrosão, bem como aumentar sua estabilidade térmica (Che *et al*., 2021; Almeida *et al*., 2021). Por sua vez, a dopagem com zinco Zn^{2+}, assim como o anterior, também pode aumentar sua resistência à corrosão, em conjunto a uma melhoria de função dos osteoblastos (Chou *et al*., 2020). Já a adição do Fe^{3+}, tem demonstrado boas melhorias tanto nas propriedades mecânicas do material, quanto no processo de osseointegração do material. Além disso, o mesmo tem ganhado cada vez mais relevância, devido a sua elevada capacidade antimicrobiana (Alturki, 2022; Ereiba *et al*., 2013; Raveendran *et al*., 2020).

O ferro (Fe^{2+}/Fe^{3+}) é um elemento crucial para a saúde humana e animal, presente em muitas enzimas, como hemoglobina, citocromos e mioglobina, desempenhando um papel crítico na manutenção de processos biológicos como transporte de oxigênio, produção de energia em mitocôndrias, transporte de elétrons e oxidação – redução no corpo humano. Além disso, o ferro é um oligoelemento fundamental para a formação e manutenção dos ossos e dentes, desempenhando um papel fundamental na produção da proteína colágeno, essencial na formação da matriz óssea (Ansari, 2019; Balogh *et al*., 2018). Contudo, devido à presença difusa das enzimas mencionadas acima no corpo, a deficiência ou excesso desse micronutriente pode resultar em uma variedade de patologias e desequilíbrios, como aqueles de natureza metabólica (formação de hormônios da tireoide) e imunocompetência (uma vez que o ferro afeta a proporção e função de diversos subconjuntos de linfócitos T) (Abbaspour *et al*., 2014; Li *et al*., 2023).

Neste sentido, esta pesquisa propõe um estudo de prospecção entre os anos de 2016 até 2022 a respeito da incorporação de íons Fe^{2+} na estrutura cristalina do beta fosfato tricálcico. Foram analisados o número de publicações por ano, os países envolvidos nas publicações bem como as rotas de síntese e as principais aplicações, visando explorar a literatura acerca das pesquisas desenvolvidas até agora com essa importante biocerâmica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

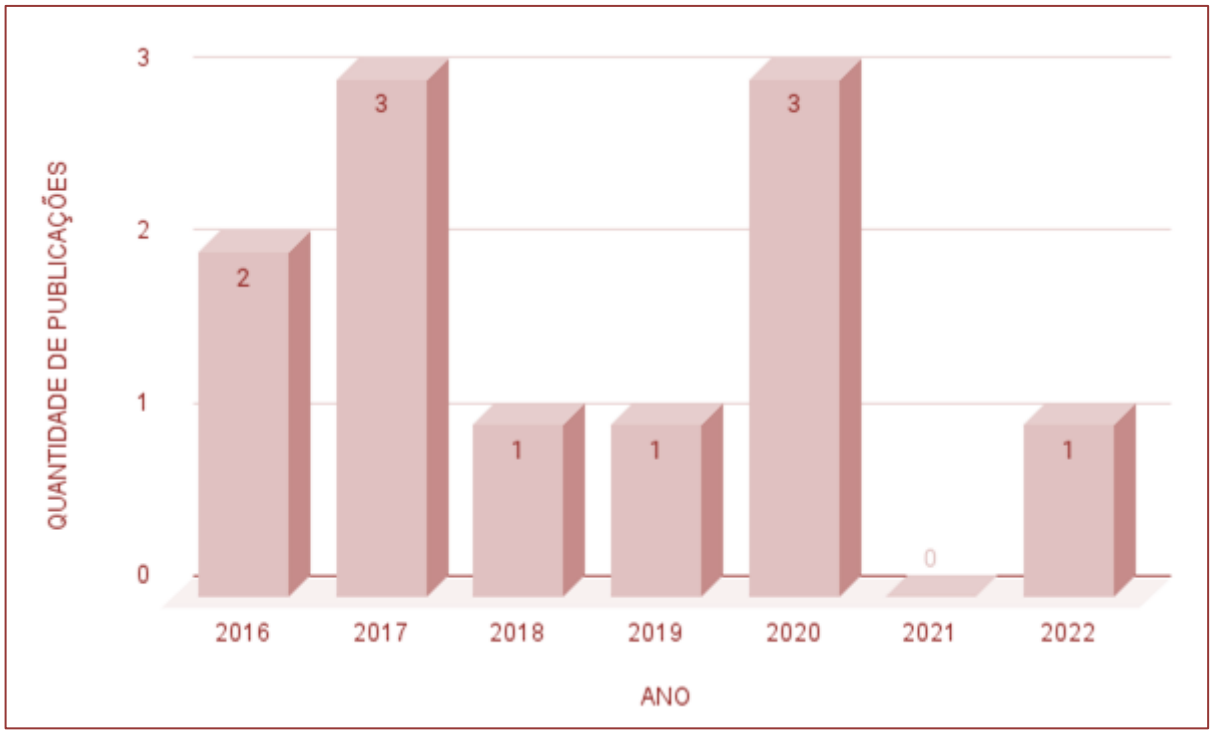
Esta pesquisa consistiu em um estudo prospectivo tecnológico e científico, com o objetivo de buscar artigos científicos por meio do portal de periódicos da CAPES via acesso CAFE (Comunidade Acadêmica Federada), utilizando as bases de periódicos *ScienceDirect*, *Scopus*, *Web of Science, PubMed* e *IOPscience* para a busca dos artigos.

Foram utilizadas como palavras-chave no campo de busca, os termos "*Beta TCP doped iron*", "*TCP doped iron*", "*Beta tricalcium phosphate doped iron*" e "*Beta TCP doped with Fe*". Neste sentido, o levantamento dos artigos científicos limitou-se apenas aos artigos de pesquisa, excluindo-se os artigos de revisão, de 2016 até 2022.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa resultou em um total de dez artigos científicos publicados entre 2016 e 2022. A figura 2 detalha a quantidade anual dessas publicações.

Figura 2: Número de artigos por ano no período de 2016 a 2022.



Analisando a Figura 2, percebe-se uma variação significativa na quantidade de estudos publicados. Em 2016, o número de publicações é relativamente baixo, com apenas dois registros, e essa tendência de baixa produtividade persiste ao longo dos anos subsequentes. Os anos de 2017 e 2020 apresentam um leve aumento no interesse, com três publicações em cada um desses anos. No entanto, houve uma queda em 2018 e 2019, com apenas uma publicação em cada ano. Curiosamente, em 2021, não foram registradas publicações, o que pode indicar uma redução temporária no interesse ou uma priorização de outras áreas de pesquisa. Em 2022, o número de publicações voltou a ser um, sugerindo uma continuidade de baixa atenção ao β-TCP nesse período.

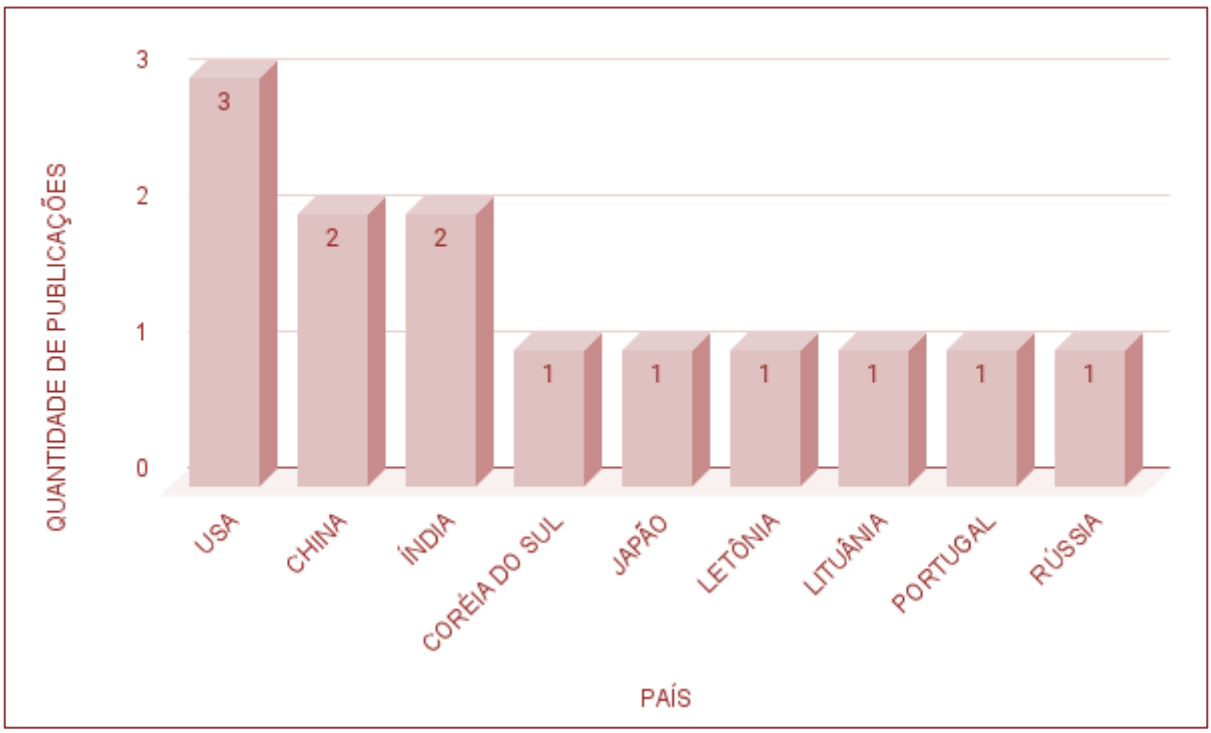
Esse comportamento pode indicar que o β-TCP, embora relevante, talvez esteja passando por um período de menor foco em inovações ou uma saturação nos estudos convencionais, com pesquisadores mais concentrando em aspectos já amplamente explorados. A continuidade desse padrão ao longo do tempo pode sinalizar a necessidade de inovações ou novas abordagens para impulsionar o desenvolvimento de aplicações ou estudos mais aprofundados sobre esse composto. A Figura 3 apresenta os países com as respectivas quantidades de publicações.

Analisando a Figura 3, observa-se que um total de nove países distintos estão representados, com destaque para os Estados Unidos, que se sobressaem com três publicações. Esta supremacia norte-americana demonstra o interesse e o investimento

contínuo em materiais para aplicações biomédicas e industriais, área nas quais o β-TCP tem grande potencial. Além disso, o número de publicações dos Estados Unidos indica para uma infraestrutura consolidada e apoio consistente à pesquisa, permitindo uma produção científica mais robusta e inovadora em comparação com outros países.

China e Índia seguem como influentes no campo, com duas publicações cada, demonstrando o crescente interesse de países asiáticos em tecnologias de materiais avançados. Estes países têm expandido rapidamente sua produção científica, especialmente na áreas de biomateriais e biotecnologia. A presença de países europeus como Letônia, Lituânia e Portugal; da Rússia na Eurásia; e de países asiáticos como Coreia do Sul e Japão, cada um com uma publicação, evidencia a natureza global da pesquisa sobre β-TCP. No entanto, essas contribuições esporádicas e isoladas podem indicar um interesse menos intenso ou uma infraestrutura menos direcionada ao estudo desse material específico.

Figura 3: Quantidade de publicações por país no período de 2016 a 2022.



A ausência do Brasil na lista de países com publicações representa uma lacuna significativa, especialmente considerando que o país possui recursos naturais abundantes e potencial acadêmico do país para contribuir ativamente com a pesquisa sobre β-TCP e outros materiais biomédicos. Essa ausência de representatividade brasileira sugere desafios como possíveis restrições de financiamento, número limitado de grupos de pesquisa especializados ou até mesmo uma prioridade científica distinta, voltada para outros campos. A inclusão do Brasil nesse cenário global de pesquisa sobre β-TCP seria estratégica para diversificar o conhecimento científico e fomentar inovações aplicáveis tanto ao mercado nacional quanto ao internacional.

A Revista *Ceramics International* (ISSN 1873-3956) destacou-se como o periódico com o maior número de publicações sobre β-TCP dopado com íons Fe^{2+} entre 2016 e 2022, evidenciando sua relevância no campo da pesquisa de materiais cerâmicos avançados e suas aplicações biomédicas. Este periódico possui uma tradição consolidada em divulgar avanços tecnológicos e científicos relacionados a cerâmicas, abrangendo desde estudos de síntese e caracterização até aplicações em biocerâmicas e tecnologias para saúde.

O fato de a *Ceramics International* acumular o maior número de publicações sobre β-TCP nesse período sugere que o periódico se tornou um canal preferencial para cientistas compartilharem descobertas e inovações relacionadas a esse material. Essa preferência pode estar associada ao alcance internacional e ao prestígio da revista, que oferece uma plataforma visível e respeitada para a disseminação de pesquisas de ponta em biomateriais e cerâmicas funcionais.

A escolha deste periódico por pesquisadores de diferentes partes do mundo reflete seu impacto significativo na área de materiais cerâmicos e a confiança da comunidade acadêmica na qualidade das revisões e na credibilidade das publicações.

4.1. MÉTODOS DE SÍNTESE

Basicamente, a síntese do β-TCP pode ser realizada pela conversão térmica de um precursor com razão molar Ca/P ≈ 1,5 como a hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA), ou o fosfato de cálcio amorfo (ACP), em uma faixa de temperatura que varia de 650 a 750 °C, ou por reação de estado sólido de uma mistura de precursores sólidos em altas temperaturas (Bohner *et al*., 2020). Entretanto, várias outras rotas de síntese podem ser utilizadas para a síntese do β-TCP, onde as características do material produzido vão depender do tipo de síntese utilizada (Chaair *et al*., 2017).

Os principais métodos utilizados para sintetizar o β-TCP foram o método de reação em estado sólido e o método de precipitação química. Conhecido como precipitação em via úmida, química ou aquosa, o método de precipitação química é um processo no qual uma substância solúvel é convertida para uma forma insolúvel, seja por reação química ou por mudanças na composição do solvente, reduzindo a solubilidade da substância. Esse método apresenta como vantagens a facilidade no controle dos parâmetros do processo, a obtenção de pós com partículas finas, elevada área superficial específica, homogeneidade química e uso de reagentes de baixo custo, permitindo a produção de cerâmicas densas em temperaturas de sinterização inferiores às temperaturas necessárias para pós obtidos por outros métodos (Liang, 1997; Mazumder *et al*., 2019).

O método consiste na dissolução de um sólido em uma solução, levando à formação de espécies iônicas que, posteriormente, se precipitam na forma e quantidade ideais para originar precursores. Essa rota de síntese consiste em dois processos: nucleação (crescimento e formação do centro de nucleação) e o crescimento subsequente das partículas (Kakihana *et al*., 1998). Para garantir sua eficácia, o método deve ser quantitativo e simultâneo, evitando a separação preferencial de alguns dos constituintes dos precipitados formados. Além disso, é necessário o controle rígido de parâmetros como pH da solução, viscosidade, temperatura e concentração dos reagentes, de forma a assegurar a obtenção de pós com as características desejadas (Kakihana *et al*., 1998).

Sinusaite *et al*. (2020) estudaram o efeito do β-TCP sintetizado via rota de co-precipitação úmida e co-dopado com os íons Fe^{3+} e Zn^{2+}, avaliando suas propriedades

magnéticas e biológicas. O estudo revelou que houve uma diminuição gradual dos parâmetros de rede das amostras sintetizadas à medida que o nível de substituição aumentava. Análises de DRX e EPR evidenciaram que ambos os íons ocupam preferencialmente o sítio octaédrico Ca(5) e o Ca(4) no nível mais alto de substituição. A análise de espectroscopia Raman confirmou a distorção da rede cristalina das amostras co-substituídas, evidenciada pela mudança gradual na forma dos espectros obtidos. Todas as amostras substituídas apresentaram comportamento paramagnético, com valores de magnetização proporcionais à porcentagem de Fe nos pós sintetizados. Os ensaios de citotoxicidade não revelaram comportamento tóxico nos pós produzidos, mesmo com os níveis mais elevados de dopagem. Entretanto, as propriedades mecânicas não foram aprimoradas pela substituição de Ca por íons metálicos; os valores de dureza Vickers das amostras substituídas foram menores em comparação com as cerâmicas β-TCP puras. Neste sentido, o estudo concluiu que as biocerâmicas de β-TCP duplamente substituídas com Fe^{3+} e Zn^{2+} podem desempenhar um papel significativo em aplicações biomédicas, sendo promissoras para aplicações em regeneração de tecido ósseo.

Fadeeva *et al*. (2017) estudaram as propriedades físicas, químicas e biológicas de cerâmicas de β-TCP dopadas com íons de prata, cobre, zinco e ferro (III) em concentrações inferiores a 0,5% em peso, para a regeneração do tecido ósseo. Os resultados mostraram que as cerâmicas dopadas com cobre, zinco e ferro apresentaram melhorias significativas nas propriedades mecânicas e bioativas em comparação com as cerâmicas dopadas com prata. Além disso, estas cerâmicas apresentaram atividade antibacteriana, tornando-as promissoras para aplicações clínicas.

O método de reação no estado sólido envolve reações de decomposição química, nas quais uma mistura de reagentes sólidos é aquecida para formar uma nova composição sólida e liberar gases como subprodutos. Este método é comumente usado para a produção de óxidos complexos a partir de óxidos simples, carbonatos, nitratos, hidróxidos, oxalatos, alcóxidos e outros sais metálicos (Buekenhoudt *et al*., 2010).

Normalmente, o procedimento inclui várias etapas de recozimento, com múltiplas etapas de moagem intermediárias para aumentar a homogeneidade da mistura e reduzir o tamanho das partículas do pó. Esse método é relativamente econômico e requer um aparato simples. Além disso, permite a preparação de grandes volumes de pós de forma prática. No entanto, em comparação com outros métodos, o pó obtido por reação no estado sólido apresenta tendência a aglomeração, resultando em partículas de tamanho relativamente grande e com homogeneidade química limitada (Buekenhoudt *et al*., 2010).

Vahabzadeh e Bose (2017) investigaram os efeitos da adição de diferentes quantidades de ferro (Fe) na composição da fase de amostras de β-TCP, sinterizadas a 1250°C pelo método de reação em estado sólido seguido de prensagem uniaxial. Os efeitos da concentração de Fe na porosidade e na resistência à compressão foram avaliados utilizando o método de Arquimedes e o teste de compressão uniaxial, respectivamente. Além disso, para entender as relações in vitro entre células ósseas e o material, foram estudados os efeitos da concentração de Fe na proliferação e diferenciação de células osteoblásticas. O estudo concluiu que a adição de Fe em concentrações de 0,5 e 1,0% em peso inibiu a transformação da fase β-TCP em α-TCP a 1250 °C, levando à formação da fase líquida. Adicionalmente, a incorporação de 0,25% em peso de Fe aumentou a resistência à compressão do β-TCP, enquanto concentrações mais altas de Fe não provocaram mudanças significativas nessa propriedade. A presença de Fe aumentou as densidades aparente e relativa. A proliferação e diferenciação de células osteoblásticas

foram melhoradas em todas as amostras dopadas, sendo a maior atividade observada nas amostras dopadas com 0,5% em peso de Fe.

Bose *et al*. (2018) investigaram o efeito da dopagem com óxido de ferro e sílica em *scaffolds* impressos em 3D a partir de β-TCP sintetizados pelo método de reação em estado sólido, visando avaliar a formação de tecido ósseo e vasos sanguíneos in vivo. Os *scaffolds* dopados demonstraram que a introdução de óxido de ferro e sílica aumentou significativamente a formação de osso e a vascularização, em comparação com *scaffolds* não dopados. Além disso, a dopagem não comprometeu a biocompatibilidade nem a segurança dos *scaffolds*, evidenciando seu potencial para aplicações biomédicas.

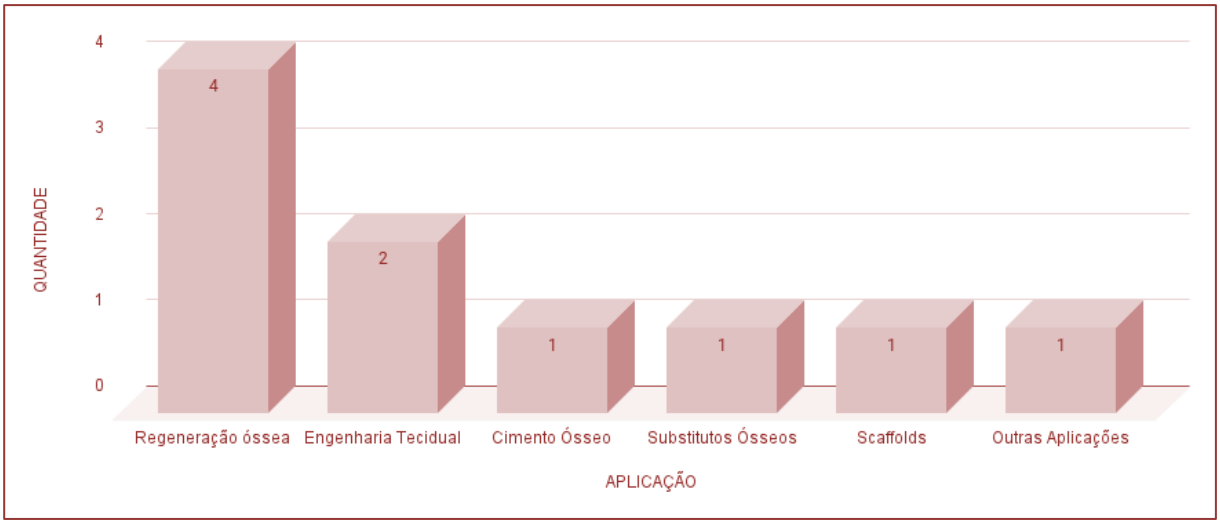
4.2. APLICAÇÕES

Analisando as aplicações constatou-se que todos os artigos revisados direcionam o uso de β-TCP para o campo dos biomateriais. A Figura 4 apresenta as diferentes aplicações voltadas a essa área.

Percebe-se a existência de seis aplicações distintas no campo dos biomateriais. Entre elas, destaca-se que quatro artigos utilizaram o β-TCP na regeneração óssea guiada, representando 40% das aplicações descritas. Essa foi seguida pelas aplicações na grande área da engenharia tecidual, que correspondem a 20% do total. As demais aplicações, com abordagem distintas, compreendem os 40% restantes das aplicações em biomateriais.

A regeneração óssea guiada (ROG) é um procedimento cirúrgico que usa materiais enxertados e membranas como barreira para estimular e orientar o crescimento de novo osso em defeitos. Nesta técnica, um osso autógeno e/ou um biomaterial é colocado na área do osso deficiente mantendo o espaço e estimulando a formação do novo osso, onde são utilizadas membranas acima do defeito preenchido para prevenir a permeação de tecidos moles. Esta técnica é utilizada por exemplo, para restaurar osso em caso de defeitos tipo fenestração ou deiscência ao redor de implantes, para compensar deficiências maiores do maxilar ou para evitar a reabsorção óssea após a extração de dente em alvéolos deficientes .

Figura 4 - Aplicações do β-TCP dopado com íons Fe^{2+}



Yoo *et al*. (2020) analisaram o impacto dos íons de ferro (Fe) sobre a estrutura e o comportamento in vitro do β-TCP, com o objetivo de aprimorar suas propriedades biológicas. Amostras de β-TCP dopadas com Fe foram sintetizadas pelo método de coprecipitação e tratadas termicamente a 1100 °C. As análises estruturais, realizadas por refinamento de Rietveld e espectroscopia de fotoelétrons de raios-X, mostraram que os íons Fe^{2+} e Fe^{3+} ocupam diferentes sítios de cálcio, resultando em modificações na estrutura e na degradação do β-TCP. Essas alterações favoreceram a adesão e a proliferação de células ósseas no material, indicando que a dopagem com Fe potencializa o β-TCP como um substituto ósseo eficaz, capaz de promover uma regeneração óssea mais rápida e eficiente.

Singh *et al*. (2017) investigaram a capacidade do fosfato tricálcico (β-TCP) de incorporar íons de ferro (Fe^{3+}) em sua rede estrutural, avaliando sua suscetibilidade magnética, efeito de hipertermia, biocompatibilidade e propriedades mecânicas. Os resultados mostraram que o β-TCP consegue acomodar até 5,02 mol% de Fe^{3+} em seu sítio $Ca^{2+}(5)$, com adições em excesso formando fases secundárias como $Ca_9Fe(PO_4)_7$ e $CaFe_3(PO_4)_3O$, as quais impactam negativamente a estabilidade mecânica e o efeito de hipertermia. Os testes de biocompatibilidade, como análise de hemólise, citotoxicidade e expressão gênica de ALP, confirmaram a adequação do material para uso biomédico. Com aplicações voltadas para a regeneração óssea e tratamento de câncer ósseo, o β-TCP dopado com Fe oferece a combinação de similaridade composicional com o osso natural e características magnéticas adequadas para o tratamento de tumores por hipertermia, onde as células cancerígenas são destruídas pelo aumento controlado da temperatura. Esse material inovador contribui para o campo da regeneração óssea ao fornecer um enxerto que, além de promover a regeneração, possui potencial para terapias antitumorais, uma abordagem ainda pouco explorada em *scaffolds* magnéticos à base de β-TCP.

A engenharia tecidual é uma área interdisciplinar que combina princípios da biologia, engenharia de materiais e medicina para desenvolver soluções que substituam, melhorem ou regenerem tecidos e órgãos danificados. Sua aplicação é ampla, abrangendo desde o tratamento de lesões ósseas e defeitos estruturais até a criação de *scaffolds* que auxiliam na regeneração de tecidos. Nos últimos anos, o número de pesquisas envolvendo a engenharia tecidual tem aumentado significativamente, especialmente em relação à dopagem de β-TCP com íons Fe^{2+}, que traz benefícios tanto para a regeneração óssea quanto para o tratamento de doenças como o câncer ósseo (Chakraborty e Devi, 2024; Li *et al*., 2024).

A dopagem de β-TCP com Fe^{2+} não só melhora as propriedades mecânicas e a bioatividade do material, mas também introduz propriedades magnéticas, o que possibilita aplicações inovadoras, como a hipertermia magnética para tratamento antitumoral. Essa abordagem tem atraído a atenção de pesquisadores, pois permite que o material funcione como um substituto ósseo com capacidade regenerativa, ao mesmo tempo em que possui características antitumorais. A tendência crescente de estudos nesse campo reflete o interesse da comunidade científica em explorar novos biomateriais multifuncionais, capazes de oferecer benefícios tanto para a regeneração de tecidos quanto para o tratamento de condições clínicas complexas, ampliando o potencial de aplicação da engenharia tecidual (Chakraborty e Devi, 2024; Li *et al*., 2024).

Macedo *et al*. (2022) investigaram a adição simultânea de íons metálicos, como Mn^{2+}, Zn^{2+} e Fe^{3+}, ao β-TCP dopado com 10 mol% de Mg^{2+}. Os resultados mostraram que o β-TCP pode ser dopado com combinações de íons metálicos, mantendo β-TCP e

hidroxiapatita como as principais fases cristalinas. A presença dos íons metálicos influenciou as propriedades estruturais e físicas do composto de β-TCP, resultando em uma microestrutura densa e melhor resistência mecânica para composições específicas. Além disso, os compostos dopados não apresentaram efeitos citotóxicos, sugerindo que esses materiais possuem potencial para aplicações em engenharia tecidual. O β-TCP, devido à sua composição semelhante à do osso, quando dopado com esses íons, apresentou propriedades mecânicas e biocompatibilidade aprimoradas, tornando-se uma opção promissora para regeneração óssea. Essa pesquisa ressalta a relevância da engenharia tecidual no desenvolvimento de biomateriais avançados que mimetizam as características do osso natural, contribuindo para a inovação em tratamentos ortopédicos e reabilitação.

Vahabzadeh *et al*. (2020) investigaram a incorporação do ferro (Fe) em diferentes concentrações (0,25, 0,50 e 1,00 % em peso) nos cimentos de brushita (BrC) e analisaram seu impacto na composição de fases, tempo de cura, resistência à compressão e interação com células-tronco de polpa dentária humana (hDPSCs). Os resultados mostraram que o aumento da concentração de Fe elevou a proporção de β-fosfato tricálcico (β-TCP) em relação ao fosfato de cálcio dihidratado (DCPD), além de prolongar o tempo de cura devido ao papel estabilizador do Fe na estrutura cristalina do β-TCP. Enquanto baixas concentrações de Fe não comprometeram a resistência à compressão, a adição de 1,00 % em peso de Fe reduziu significativamente essa propriedade. A interação entre os cimentos de BrC e hDPSCs foi avaliada através de ensaios de proliferação celular, mostrando que as baixas concentrações de Fe não afetaram negativamente a adesão e proliferação celular, enquanto a concentração mais alta resultou em diminuição da atividade celular. Esses dados indicam que concentrações de Fe iguais ou inferiores a 0,50 % em peso podem ser adicionadas com segurança aos cimentos de BrC, preservando suas propriedades físicas, mecânicas e biológicas. Os cimentos de brushita, devido à sua osteoindutividade e capacidade de moldagem, demonstram grande potencial para aplicações em regeneração óssea e tratamentos dentários, contribuindo para o avanço de biomateriais eficazes na medicina regenerativa.

He *et al*. (2017) produziram bio-cermets à base de beta fosfato tricálcico (β-TCP) e ferro biodegradável usando metalurgia de pó. A análise dos materiais revelou que o ferro promoveu difusão atômica na matriz de β-TCP durante a sinterização, resultando em aumento da tenacidade à fratura (1,16–1,55 MPa $m^{1/2}$) e resistência à compressão (640 MPa), valores superiores aos do β-TCP puro. Testes in vitro indicaram que os bio-cermets não apresentaram toxicidade e que a liberação de íons de ferro estimulou a expressão de genes osteogênicos em células-tronco mesenquimais, demonstrando seu potencial para substituição óssea em áreas sujeitas a carga. Esses compósitos de fosfato de cálcio (CaP) são atraentes para enxertos devido à sua biocompatibilidade e osteocondutividade, uma vez que sua composição química se assemelha ao osso humano. No entanto, as limitações da resistência do β-TCP para suportar carga foram abordadas com a introdução do ferro, que melhorou as propriedades mecânicas e a bioatividade do material.

Singh *et al*. (2017) exploraram o efeito de co-substituições de Fe^{3+} e Ni^{2+} na estrutura do β-$Ca_3(PO_4)_2$ para tratamento por hipertermia. A análise estrutural demonstrou que β-$Ca_3(PO_4)_2$ pode acomodar até 12,55 mol.% de Ni^{2+} e 6,25 mol.% de Fe^{3+} sem distorções estruturais, com os íons preferencialmente ocupando o sítio Ca^{2+}(5). As co-substituições exibiram propriedades magnéticas superiores e um efeito de hipertermia mais intenso em comparação com substituições apenas com Ni^{2+}. Concentrações mais altas de Ni^{2+} mostraram efeitos citotóxicos, enquanto doses menores

em co-substituições com Fe^{3+} demonstraram toxicidade mínima. Materiais magnéticos à base de fosfatos de cálcio são promissores na área biomédica, devido à sua biocompatibilidade e ao potencial para terapias de hipertermia, especialmente em terapias de câncer ósseo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise das publicações sobre β-TCP dopado com íons Fe^{2+} entre 2016 e 2022 revela variações significativas na produção científica ao longo dos anos, além de uma distribuição geográfica concentrada, com destaque para os Estados Unidos, China e Índia. Esses países demonstram um crescente interesse em biomateriais voltados para regeneração óssea e engenharia tecidual. Apesar da relevância do β-TCP, observa-se que o volume de estudos recentes ainda é modesto, o que pode indicar uma estabilização do interesse acadêmico ou, alternativamente, a necessidade de inovações para aprofundar suas aplicações. Em termos de métodos de síntese, predominam os processos de reação em estado sólido e precipitação química, que permitem o controle de características específicas do material, como o tamanho das partículas e a homogeneidade. A dopagem com íons Fe não só melhora a biocompatibilidade do β-TCP, como também introduz propriedades magnéticas, o que abre portas para aplicações inovadoras, como a hipertermia antitumoral. Essas propriedades conferem ao material um caráter multifuncional, ampliando seu potencial no campo dos biomateriais. Esses dados reforçam a importância de diversificar as abordagens de pesquisa e sugerem um considerável potencial para países com forte infraestrutura acadêmica, como o Brasil, contribuírem para expandir as possibilidades de uso do β-TCP em aplicações biomédicas inovadoras.

REFERÊNCIAS

[1] ABBASPOUR, N.; HURRELL, R.; KELISHADI, R. **Review on iron and its importance for human health**. Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences, v. 19, n. 2, p. 164–74, 2014.

[2] AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SAERI, M. R.; SORRELL, C. C. **Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite**. Materials and Design, v. 24, n. 3, p. 197–202, 2003.

[3] ALTURKI, A. M. **Physicochemical studies of iron/vanadate doped hydroxyapatite/polycaprolactone nanofibers scaffolds**. Journal of Molecular Structure, v. 1260, 2022.

[4] AMINI, A. R.; LAURENCIN, C. T.; NUKAVARAPU, S. P. **Bone Tissue Engineering: Recent Advances and Challenges**. Critical Reviews™ in Biomedical Engineering, v. 40, n. 5, p. 363–408, 2012.

[5] ANSARI, M. **Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies**. Progress in Biomaterials, v. 8, n. 4, p. 223–237, 2019.

[6] BAGHERI SAED, A.; BEHRAVESH, A. H.; HASANNIA, S.; AKHOUNDI, B.; HEDAYATI, S. K.; GASHTASBI, F. **An in vitro study on the key features of Poly L-lactic acid/biphasic calcium phosphate scaffolds fabricated via DLP 3D printing for bone grafting**. European Polymer Journal, v. 141, p. 110057, 2020.

[7] BALOGH, E.; PARAGH, G.; JENEY, V. **Influence of Iron on Bone Homeostasis**. Pharmaceuticals, v.11, n. 4, p. 107, 2018.

[8] BHAWAL, U. K.; UCHIDA, R.; KUBOYAMA, N.; ASAKURA, T.; HIRATUSKA, K.; NISHIYAMA, N. **Effect of the surface morphology of silk fibroin scaffolds for bone regeneration**. Bio-Medical Materials and Engineering, v. 27, n. 4, p. 413–424, 2016.

[9] BOHNER, M.; SANTONI, B. L. G.; DÖBELIN, N. **β-tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties**. Acta Biomaterialia, v. 113, p. 23–41, 2020.

[10] BOSE, S.; BANERJEE, D.; ROBERTSON, S.; VAHABZADEH, S. **Enhanced In Vivo Bone and Blood Vessel Formation by Iron Oxide and Silica Doped 3D Printed Tricalcium Phosphate Scaffolds**. Annals of Biomedical Engineering, v. 46, n. 9, p. 1241–1253, 2018.

[11] BRASSOLATTI, P.; BOSSINI, P. S.; ANDRADE, A. L. M. DE; FLORES LUNA, G. L.; SILVA, J. V. DA; ALMEIDA-LOPES, L.; NAPOLITANO, M. A.; SILVA DE AVÓ, L. R. DA; OLIVEIRA LEAL, Â. M. DE; FREITAS ANIBAL, F. DE. **Comparison of two different biomaterials in the bone regeneration (15, 30 and 60 days) of critical defects in rats**. Acta Cirurgica Brasileira, v. 36, n. 6, 2021.

[12] CHAAIR, H.; LABJAR, H.; BRITEL, O. **Synthesis of β-tricalcium phosphate Synthèse du phosphate tricalcique-β**. Morphologie, vol.101, n°334, p.120-124, 2017.

[13] CHAKRABORTY, M.; DEVI, A. **Landscape of scaffolds from advanced synthesis to tissue engineering**. Materials Today Chemistry, v. 40, 2024.

[14] CHE, J.; WANG, H.; MA, Y.; CAO, F.; LIU, G.; SHANG, W.; LV, X.; SUN, T.; TONG, J. **Effects of Mn-doping on the structure and in vitro degradation of β-tricalcium phosphate**. Ceramics International, v. 47, n. 16, p. 22994–23000, 2021.

[15] CHOU, Y. J.; NINGSIH, H. S.; SHIH, S. J. **Preparation, characterization and investigation of antibacterial silver-zinc co-doped β-tricalcium phosphate by spray pyrolysis**. Ceramics International, v. 46, n. 10, p. 16708–16715, 2020.

[16] CUNEYT TAS, A.; BHADURI, S. B.; JALOTA, S. **Preparation of Zn-doped β-tricalcium phosphate (βCa3(PO4)2) bioceramics**. Materials Science and Engineering: C, v. 27, n. 3, p. 394–401, 2007.

[17] DONG, J.; UEMURA, T.; SHIRASAKI, Y.; TATEISHI, T. **Promotion of bone formation using highly pure porous β-TCP combined with bone marrow-derived osteoprogenitor cells**. Biomaterials, v. 23, n. 23, p. 4493–4502, 2002.

[18] DOROZHKIN, S. V. **Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine**. Materials, v. 2, n. 2, p. 399, 2009.

[19] DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphates - Occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications**. Biomater. v. 1. p. 121-164, 2011.

[20] DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphate-based bioceramics**. Materials v. 6, p. 3840–3942, 2013.

[21] DOROZHKIN, S. V. **Calcium Phosphates**. Em: ANTONIAC,I. V. Handbook of Bioceramics and Biocomposites . [s.l.] Springer, 2016. p. 91–118.

[22] ELLIOTT, J. C. **Structure and chemistry of apatite and other calcium orthophosphates**. Elsevier, Amsterdan, 1994.

[23] EPPLE, M.; GANESAN, K.; HEUMANN, R.; KLESING, J.; KOVTUN, A.; NEUMANN, S. **Application of calcium phosphate nanoparticles in biomedicine**. Journal of Materials Chemistry, v. 20, p.18-23, 2010.

[24] EREIBA, K. M. T.; MOSTAFA, A. G.; GAMAL, G. A.; SAID, A. H. I**n vitro study of iron doped hydroxyapatite**. Journal of Biophysical Chemistry, v. 4, n. 4, p. 122–130, 2013.

[25] FADEEVA, I. V.; GAFUROV, M. R.; KIIAEVA, I. A.; ORLINSKII, S. B.; KUZNETSOVA, L. M.; FILIPPOV, Y. Y.; FOMIN, A. S.; DAVYDOVA, G. A.; SELEZNEVA, I. I.; BARINOV, S. M. **Tricalcium Phosphate Ceramics Doped with Silver, Copper, Zinc, and Iron (III) Ions in Concentrations of Less Than 0.5 wt.% for Bone Tissue Regeneration**. BioNanoScience, v. 7, n. 2, p. 434–438, 2017.

[26] FARIAS, J. R. S.; CARVALHO, G. K. G.; BRAGA, A. N. S. **Cerâmicas de fosfatos de cálcio bifásicas: uma revisão**. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.15, n. 2, p. 54-70, 2020.

[27] FARIAS, J. R. DE S.; SALES, V. R. A.; ALMEIDA, Y. B. A. DE; MOURA JUNIOR, D. DE; ALVES, K. E. D. S.; MARTINS, M. M.; SIMÕES, VERUSKA DO NASCIMENTO; BRAGA, A. DO N. S. **UMA REVISÃO SOBRE O BETA FOSFATO TRICÁLCICO (ß-TCP) DOPADO COM ÍONS METÁLICOS**. In: Anais do Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia. Anais...Diamantina (MG) Online. 5 set. 2022.

[28] FERNANDEZ-YAGUE, M. A.; ABBAH, S. A.; MCNAMARA, L.; ZEUGOLIS, D. I.; PANDIT, A.; BIGGS, M. J. **Biomimetic approaches in bone tissue engineering: Integrating biological and physicomechanical strategies**. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 84, p. 1–29, 2015.

[29] GOMES, S.; KAUR, A.; GRENÈCHE, J. M.; NEDELEC, J. M.; RENAUDIN, G. **Atomic scale modeling of iron-doped biphasic calcium phosphate bioceramics**. Acta Biomaterialia, v. 50, p. 78–88, 2017.

[30] GROTTO, H. Z. W.. **Fisiologia e metabolismo do ferro**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 32, n. SUPPL. 2, p. 08–17, 2010.

[31] GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. **Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos**. Química Nova, v. 33, n. 6, p. 1352– 1358, 2010.

[32] GUL, H.; KHAN, M.; KHAN, A. S. **Bioceramics: types and clinical applications**. Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites, p. 53–83, 2020.

[33] KAKIHANA, M.; OKUBO, T.; ARIMA, M.; NAKAMURA, Y.; YASHIMA, M.; YOSHIMURA, M. **Polymerized complex route to the synthesis of pure SrTiO3 at reduced temperatures: implication for formation of Sr-Ti heterometallic citric acid complex**. Journal of Sol-Gel Science and Technology, v. 12, 1998.

[34] KASAJ, A.; WILLERSHAUSEN, B; REICHERT, C.; GORTAN-KASAJ, A.; ZAFIROPOULOS, G. G.; SCHMIDT, M. **Human periodontal fibroblast response to a nanostructured hydroxyapatite bone replacement graft in vitro**. Archives of oral biology, v.53, p. 683-689, 2008.

[35] Knabe, C.; Adel-Khattab, D.; Hübner, W.-D.; Peters, F.; Knauf, T.; Peleska, B.; Barnewitz, D.; Genzel, A.; Kusserow, R.; Sterzik, F.; Stiller, M.; Muller-Mai, C. **Effect of silicon-doped calcium phosphate bone grafting materials on bone regeneration and osteogenic marker expression after implantation in the ovine scapula**. Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials, v. 107, n. 3, p. 594–614, 2019.

[36] KOKUBO, T.; KIM, H. M.; KAWASHITA, M. **Novel bioactive materials with different mechanical properties**. Biomaterials, v. 24, n. 13, p. 2161–2175, 2003.

[37] KUMAR, R.; RAUTI, R.; SCAINI, D.; ANTMAN- PASSIG, M.; MESHULAM, O.; NAVEH, D.; BALLERINI, L.; SHEFI, O. **Graphene- Based Nanomaterials for Neuroengineering: Recent Advances and Future Prospective**. Umich.edu, 2021.

[38] LAKRAT, M.; JODATI, H.; MEJDOUBI, E. M.; EVIS, Z. **Synthesis and characterization of pure and Mg, Cu, Ag, and Sr doped calcium-deficient hydroxyapatite from brushite as precursor using the dissolution-precipitation method**. Powder Technology, v. 413, p. 118026, 2023.

[39] LI, X.; DUAN, X.; TAN, D.; ZHANG, B.; XU, A.; QIU, N.; CHEN, Z. **Iron deficiency and overload in men and woman of reproductive age, and pregnant women**. Reproductive Toxicology, v. 118, p. 108381, 2023.

[40] LI, S.; DAN, X.; CHEN, H.; LI, T.; LIU, B.; JU, Y.; LI, Y.; LEI, L.; FAN, X. **Developing fibrin-based biomaterials/scaffolds in tissue engineering**. Bioactive Materials, v. 40, p. 597-623, 2024.

[41] LIANG, L.; RULIS, P.; CHING, W. Y. **Mechanical properties, electronic structure and bonding of α- and β-tricalcium phosphates with surface characterization**. Acta Biomaterialia, v. 6, n. 9, p. 3763–3771, 2010.

[42] LIANG, L. **Filtration and Separation**. In: Standard handbook of hazardous waste treatment and disposal. FREEMAN, H Ed. McGraw-Hill, 2ed., 1997.

[43] LIU, Q.; CEN, L.; YIN, S.; CHEN, L.; LIU, G.; CHANG, J.; CUI, L. **A comparative study of proliferation and osteogenic differentiation of adiposederived stem cells on akermanite and β-TCP ceramics**. Biomaterials, v. 29, n. 36, p. 4792–4799, 2008.

[44] MACEDO, D. F.; CUNHA, A. F.; MANO, J. F.; OLIVEIRA, M. B.; SILVA, A. P. **Tricalcium phosphate doped with Mg2+ and combinations of Mn2+, Zn2+ and Fe3+: A DoE study on sintering, mechanical, microstructural and biological properties**. Ceramics International, v. 48, n.14, p. 20467– 20477, 2022.

[45] MALA, R.; RUBY CELSIA, A. S. **Bioceramics in orthopaedics: A review**. Fundamental Biomaterials: Ceramics, p. 195–221, 2018.

[46] MARCHI, J.; DANTAS, A. C. S.; GREIL, P.; BRESSIANI, J. C.; BRESSIANI, A. H. A.; MÜLLER, F. A. **Influence of Mg-substitution on the physicochemical properties of calcium phosphate powders**. Materials Research Bulletin, v. 42, n. 6, p. 1040–1050, 2007.

[47] MATSUNAGA, K.; KUBOTA, T.; TOYOURA, K.; NAKAMURA, A. **First-principles calculations of divalent substitution of Ca2+ in tricalcium phosphates**. Acta Biomaterialia, v. 23, p. 329–337, 2015.

[48] MAZUMDER, S.; NAYAK, A. K.; ARA, T. J.; HASNAIN, M. S. **Hydroxyapatite composites for dentistry**. Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry. 2019, Pages 123-143.

[49] MEDVECKÝ, Ľ.; ŠTULAJTEROVÁ, R.; PARILÁK, Ľ.; TRPČEVSKÁ, J.; ĎURIŠIN, J.; BARINOV, S. M. **Influence of manganese on stability and particle growth of hydroxyapatite in simulated body fluid**. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 281, n. 1–3, p. 221–229, 2006.

[50] MENDES DE ALMEIDA, C.; RIBEIRO, J. S.; WELTER MEEREIS, C. T.; OGLIARI, A. O.; SILVEIRA NOREMBERG, B. DA; OGLIARI, F. A.; MICHELON, D.; LUND, R. G. **β-TCP nanoparticles doped with antimicrobial agents as an orthodontic adhesive component**. International Journal of Adhesion and Adhesives, v. 110, 2021.

[51] MOFAKHAMI, S.; SALAHINEJAD, E. **Biphasic calcium phosphate microspheres in biomedical applications**. Journal of Controlled Release, v. 338, p. 527–536, 2021.

[52] MOSKALEWICZ, T.; WARCABA, M.; CIENIEK, L.; SITARZ, M.; GAJEWSKA, M.; BOCCACCINI, A. R. **Hydroxyapatite/sodium alginate coatings electrophoretically deposited on titanium substrates: microstructure and properties**. Applied Surface Science, v.540, p.148353, 2021.

[53] OKADA, T.; KANAI, T.; TACHIKAWA, N.; MUNAKATA, M.; KASUGAI, S. **Long-term radiographic assessment of maxillary sinus floor augmentation using beta-tricalcium phosphate: analysis by cone-beam computed tomography**. International Journal of Implant Dentistry, v. 2, n. 1, 2016.

[54] OKUDA, T.; IOKU, K.; YONEZAWA, I.; MINAGI, H.; GONDA, Y.; KAWACHI, G.; KAMITAKAHARA, M.; SHIBATA, Y.; MURAYAMA, H.; KUROSAWA, H.; IKEDA, T. **The slow resorption with replacement by bone of a hydrothermally synthesized pure calcium-deficient hydroxyapatite**. Biomaterials, v.29, p.2719-2728, 2008.

[55] PARK, J. H.; BAE, J. Y.; SHIM, J.; JEON, I. **Evaluation of suitable porosity for sintered porous βtricalcium phosphate as a bone substitute**. Materials Characterization, v. 71, p. 103–111, 2012.

[56] PARK, Y. M.; RYU, S. C.; YOON, S. Y.; STEVENS, R.; PARK, H. C. **Preparation of whisker-shaped hydroxyapatite/β-tricalcium phosphate composite**. Materials Chemistry and Physics, v. 109, n. 2–3, p. 440–447, 2008.

[57] PINA, S.; REIS, R. L.; OLIVEIRA, J. M. **Ceramic biomaterials for tissue engineering**. Fundamental Biomaterials: Ceramics, p. 95–116, 2018.

[58] RAVEENDRAN, S.; KHAN, M. I. K.; DHAYALAN, A.; KANNAN, S. **Co-substitutions of iron and manganese in zirconia. Synthesis, structural, magnetic, mechanical and in vitro evaluation**. Ceramics International, v. 46, n. 1, p. 641–652, 2020.

[59] RENAUDIN, G.; GOMES, S.; NEDELEC, J. M. **Firstrow transition metal doping in calcium phosphate bioceramics: A detailed crystallographic study**. Materials, v. 10, n. 1, 2017.

[60] RODRIGUES, V. C.; MENDES, B. D.; GOZZI, A.; SANDRINI, F.; SANTANA, R. G.; MATIOLI, G. **Deficiência de ferro, prevalência de anemia e fatores associados em crianças de creches públicas do oeste do Paraná, Brasil**. Revista de Nutrição, v. 24, n. 3, p. 407–420, 2011.

[61] SBLENDORIO, G. A.; GARS SANTONI, B. LE; ALEXANDER, D. T. L.; BOWEN, P.; BOHNER, M.; DÖBELIN, N. **Towards an improved understanding of the β-TCP crystal structure by means of "checkerboard" atomistic simulations**. Journal of the European Ceramic Society, v. 43, n. 8, p. 3746–3754, 2023.

[62] A. SCHATKOSKI, V. M.; LARISSA DO AMARAL MONTANHEIRO, T.; CANUTO DE MENEZES, B. R.; PEREIRA, R. M.; RODRIGUES, K. F.; RIBAS, R. G.; MORAIS DA SILVA, D.; THIM, G. P. **Current advances concerning the most cited metal ions doped bioceramics and silicate-based bioactive glasses for bone tissue engineering**. Ceramics International, v. 47, n. 3, p. 2999–3012, 2021.

[63] SINGH, R. K.; SRIVASTAVA, M.; PRASAD, N. K.; KANNAN, S. **Structural analysis and hyperthermia effect of Fe3+/Ni2+ co-substitutions in β-Ca3(PO4)2**. Journal of Alloys and Compounds, v. 725, p. 393– 402, 2017.

[64] SINGH, R. K.; SRIVASTAVA, M.; PRASAD, N. K.; AWASTHI, S.; DHAYALAN, A.; KANNAN, S. **Iron doped β-Tricalcium phosphate: Synthesis, characterization, hyperthermia effect, biocompatibility and mechanical evaluation**. Materials Science and Engineering C, v. 78, p. 715– 726, 2017.

[65] SINUSAITE, L.; POPOV, A.; ANTUZEVICS, A.; MAZEIKA, K.; BALTRUNAS, D.; YANG, J. C.; HORNG, J. L.; SHI, S.; SEKINO, T.; ISHIKAWA, K.; KAREIVA, A.; ZARKOV, A. **Fe and Zn co-substituted beta-tricalcium phosphate (β-TCP): Synthesis, structural, magnetic, mechanical and biological properties**. Materials Science & Engineering C, v. 112, 2020.

[66] SOMERS, N.; JEAN, F.; LASGORCEIX, M.; CURTO, H.; URRUTH, G.; THUAULT, A.; PETIT, F.; LERICHE, A. **Influence of dopants on thermal stability and densification of β-tricalcium phosphate powders**. Open Ceramics, v. 7, p. 100168, 2021.

[67] ŠUPOVÁ, M. **Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review.** Ceramics International, v. 41, n. 8, p. 9203–9231, 2015.

[68] TANAKA, T.; KUMAGAE, Y.; SAITO, M.; CHAZONO, M.; KOMAKI, H.; KIKUCHI, T.; KITASATO, S.; MARUMO, K. **Bone formation and resorption in patients after implantation of βtricalcium phosphate blocks with 60% and 75% porosity in opening-wedge high tibial osteotomy.** Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, v. 86B, n. 2, p. 453–459, 2008.

[69] USKOKOVIĆ, V.; GRAZIANI, V.; WU, V. M.; FADEEVA, I. V.; FOMIN, A. S.; PRESNIAKOV, I. A.; FOSCA, M.; ORTENZI, M.; CAMINITI, R.; RAU, J. V. **Gold is for the mistress, silver for the maid: Enhanced mechanical properties, osteoinduction and antibacterial activity due to iron doping of tricalcium phosphate bone cements.** Materials Science and Engineering C, v. 94, p.798–810, 2019.

[70] VAHABZADEH, S.; BOSE, S. **Effects of Iron on Physical and Mechanical Properties, and Osteoblast Cell Interaction in β-Tricalcium Phosphate**. Annals of Biomedical Engineering, v. 45, n. 3, p. 819–828, 2017.

[71] VALENTIM, R. M. B. **Síntese e caracterização de cerâmicas bifásicas de fosfatos de cálcio (HA / βTCP) a partir de nanocelulose do tegumento do açaí (Euterpe oleracea Mart.)**. 2018. 90f. Tese (Doutorado em Engenharia de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.

[72] WANG, M.; GE, X.; CUI, Z.; WU, S.; ZHU, S.; LIANG, Y.; LI, Z.; LU, W. W. **Influences of strontium on the phase composition and lattice structure of biphasic calcium phosphate**. Ceramics International, v. 47, n. 11, p. 16248–16255, 2021.

[73] YOO, K. H.; KIM, H.; SUN, W. G.; KIM, Y. IL; YOON, S. Y. **Fe-doped tricalcium phosphates: Crystal structure and degradation behavior**. Materials Research Express, v. 7, n. 12, 2020.

[74] YOSHIDA, K.; HYUGA, H.; KONDO, N.; KITA, H.; SASAKI, M.; MITAMURA, M.; HASHIMOTO, K.; TODA, Y. **Substitution Model of Monovalent (Li, Na, and K), Divalent (Mg), and Trivalent (Al) Metal Ions for β-Tricalcium Phosphate**. Journal of the American Ceramic Society, v. 89, p. 688–690, 2005.

[75] YUAN, J.; WANG, B.; HAN, C.; HUANG, X.; XIAO, H.; LU, X.; LU, J.; ZHANG, D.; XUE, F.; XIE, Y. **Nanosized-Ag-doped porous β-tricalcium phosphate for biological applications**. Materials Science and Engineering: C, v. 114, p. 111037, 2020.

[76] ZANELATO, C. B.; PIRES, A. F.; SILVA, S. N.; GALDINO, A. G. S. **Development of biphasic bone cement obtained from chicken eggshell**. Journal of Materials Research and Technology, v.9, p.7297-7304, 2020.

Capítulo 5

Scaffolds antimicrobiano magnéticos a base de carvacrol para regeneração de tecido ósseo: uma revisão da literatura

Hermano de Vasconcelos Pina
Danyelle Garcia Guedes
Jessé de Oliveira da Silva
Andreza Josiany Aires de Farias
Matheus Ferreira de Sousa
Renate Maria Ramos Wellen
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Marcelo Jorge Cavalcanti De Sá

Resumo: A otimização das propriedades dos Scaffolds e da interação com tecidos celulares tem sido alcançada por meio do uso adicional de constituintes ativos dos óleos essenciais (OE) e materiais magnéticos. Essa abordagem potencializa os processos de regeneração óssea por meio de Scaffolds tridimensionais, constituindo uma estratégia eficaz na engenharia de tecido ósseo. Isso possibilita a obtenção de estruturas inteligentes, bioativas e responsivas a estímulos externos. Nesse sentido, este capiltulo de livro propõe uma revisão da literatura baseada em artigos de pesquisa primária com foco em Scaffolds antimicrobiano magnéticos a base de carvacrol na regeneração do tecido ósseo. Com este fim foi realizada uma busca nas plataformas Science Direct, Pubmed e Web of Science no período entre 2019 a 2024 e a revisão foi conduzida por meio do software Start. Critérios de inclusão foram utilizados para a seleção dos periódicos mais relevantes e observou-se que dentre as estratégias de Scaffolds antimicrobiano magnéticos de quitosana e/ou hidroxiapatita reportadas, as mais significativas envolveram indução da osteogenese endocondral, aumento nas vias de formação de vasos sanguineos no tecido ósseo lesado, sistema de liberação de fármaco, entrega de fatores de crescimento e combate de células tumorais. Os resultados demonstraram esses sistemas apresentam potencial promissor de aplicação em regeneração óssea.

Palavras-chaves: Magnetismo. Atividade antimicrobiano. Carvacrol. Regeneração óssea. Engenharia de tecido ósseo.

1. INTRODUÇÃO

A Engenharia de Tecido Ósseo (ETO) foca no desenvolvimento de estratégias inovadoras para superar as limitações das abordagens tradicionais de regeneração óssea, como autoenxertos, aloenxertos e substitutos ósseos sintéticos (Li *et al.*, 2021). O sucesso da regeneração óssea in situ depende do recrutamento eficaz de células-tronco ou progenitoras para o implante, induzindo-as a se transformarem em células específicas do tecido ósseo. *Scaffolds* tridimensionais desempenham um papel central na ETO, funcionando como matrizes extracelulares que catalisam células ósseas e fornecem substrato para adesão, proliferação, migração e diferenciação celular (Maia *et al.*, 2022). A biofabricação de *Scaffolds* porosos e biodegradáveis, compostos de materiais como hidroxiapatita, biopolímeros, biocerâmicas e biometais, visa reparar defeitos ósseos, especialmente em casos de grandes fraturas ou câncer, onde a regeneração natural é insuficiente. A ETO busca criar estruturas inteligentes e bioativas que respondem a estímulos externos, otimizando a regeneração óssea e superando os problemas de transmissão de doenças e rejeição de enxertos (Abdelaziz, A. G. *et al.*, 2023).

Os *Scaffolds* ósseos podem ser definidos como plataformas artificiais dedicadas a apoiar e reparar defeitos ósseos por meio do recrutamento do próprio tecido do paciente. Para o uso clínico, as propriedades e características de *design* mais importantes de um *scaffold* são biocompatibilidade, propriedades mecânicas, biodegradabilidade, tamanho dos poros e interconectividade, osteoindutividade, porosidade, estabilidade, efeitos antimicrobianos, osteocondutividade, osteointegração e osteogênese. Novos materiais que imitam as propriedades naturais do osso, combinando propriedades funcionais, mecânicas e biológicas têm sido continuamente desenvolvidos para reabilitar defeitos ósseos, incluindo *scaffold* ósseos feitos de biomateriais (Paltanea *et al.*, 2023).

Diferentes fontes têm sido buscadas para desenvolver biomateriais poliméricos e cerâmicos biodegradáveis aprimorados para mimetizar, tanto quanto possível, as características do tecido ósseo. A HAp é adequada para várias aplicações no campo biomédico, particularmente para substituição óssea, pois a HAp possui bioatividade, biocompatibilidade, resistência mecânica, estrutura porosa, osteocondução e osteointegração e atua como o principal mineral que faz osso (Maia *et al.*, 2022). A quitosana um polissacarídeo combinado com nanocerâmicas bioativas como HAp, aumenta potência mecânica e confiabilidade estrutural do compósitos para aplicações na engenharia de tecido ósseo (Rahman *et al.*, 2019; Paltanea *et al.*, 2023). Os polímeros biodegradáveis são acessíveis e altamente disponíveis e evita a necessidade de uma segunda cirurgia para retirar o implante do corpo do paciente, evitando riscos.

Esses *Scaffolds,* feitos com biomateriais, podem ser aprimorados com propriedades magnéticas. As nanopartículas magnéticas exibem propriedades materiais únicas porque podem ser manipuladas usando um campo magnético aplicado externamente (Paltanea *et al.*, 2023). Sob o efeito de um campo magnético alternado, as MNPs podem transportar diferentes medicamentos para um local de defeito ósseo (Bin *et al.*, 2020). Nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) são categorizadas como um dos membros mais importantes da família magnética de ferrita de espinélio (SFMF) por exibirem excelentes propriedades como alta estabilidade química, boa saturação de magnetização (Ms), alta permeabilidade e forte anisotropia magnética (Bigham *et al.*, 2019).

Scaffolds também podem funcionar como suportes para a entrega local de agentes antimicrobianos, impedindo a colonização de bactérias e fungos em sua superfície (Farto-

Vaamonde *et al.*, 2022). As infecções ósseas podem comprometer a eficácia dos *Scaffolds*, estender o período de recuperação e internação, além de elevar os custos médicos, impactando consideravelmente a saúde e o bem-estar do paciente (Johnson e García, 2015). Devido ao aumento de estirpes pan-resistentes, a pesquisa por novos antimicrobianos e abordagens sinérgicas tem ganhado destaque. O carvacrol, um monoterpenoide fenólico naturalmente encontrado em vários óleos essenciais, mostra-se eficaz contra bactérias, leveduras e fungos, além de prevenir a formação de biofilmes. O carvacrol também modula a inflamação, promovendo angiogênese e o crescimento celular durante a cicatrização de feridas (Costa *et al.*, 2019a).

Estudos sistemáticos que conduzam a respeito dos avanços dessa área são ainda escassos, especialmente considerando *Scaffolds* magnéticos a base de carvacrol. No entanto, uso do carvacrol ainda não foi considerado em *Scaffolds* antimicrobianos magnéticos para regeneração tecidual. Neste sentido, a análise tecnológica e a revisão da literatura científica são uma maneira disciplinada de mapear futuros desenvolvimentos científicos e tecnológicos que poderão influenciar de forma considerável uma indústria, a economia ou a sociedade como um todo, bem como mostrar o que poderá ter êxito em temos de inovação tecnológica (Paranhos e Ribeiro, 2018). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma prospecção tecnológica, com foco na análise do cenário atual em relação às pesquisas abrangendo *Scaffolds* antimicrobianos magnéticos a base de carvacrol para regeneração óssea, relacionando artigos científicos publicados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

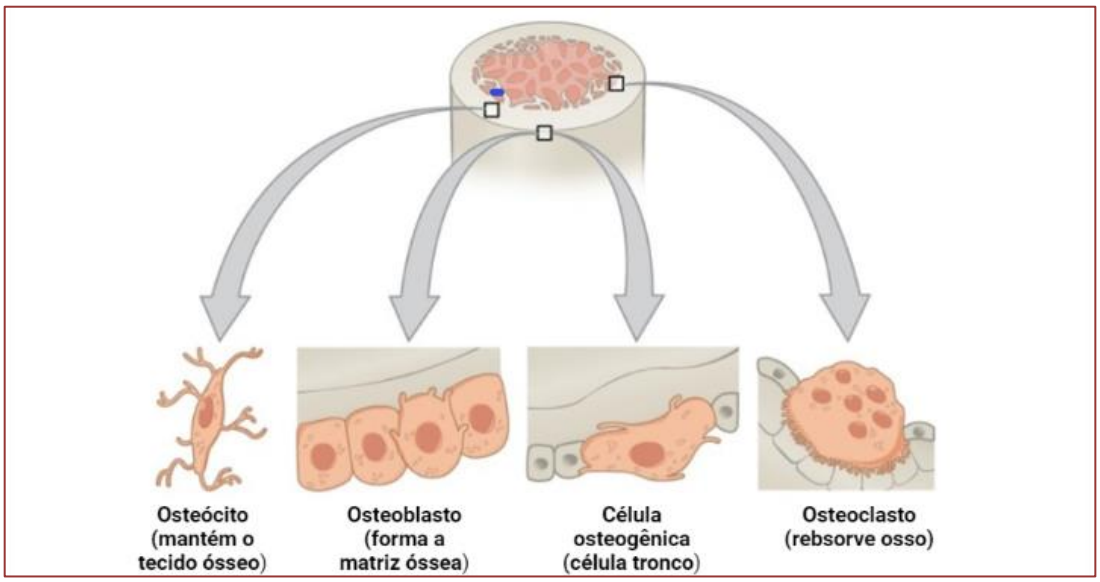
2.1. DEFEITO ÓSSEO

O osso é um tecido conjuntivo denso, que desempenha funções de proteção, suporte, hematopoiese e metabolismo. Ele é composto por uma matriz extracelular (MEC), células ósseas e fibras coloidais. Entre as células ósseas, destacam-se os osteoblastos, responsáveis pela formação do osso, os osteoclastos, encarregados da sua reabsorção, e outras células ósseas (Mallorie e Shine, 2022). A MEC possui um componente inorgânico de hidroxiapatita (HsAp) com potencial de condução óssea e moléculas de colágeno.

Cálcio, fosfato e os carbonato que compõem os minerais ósseos são os principais constituintes iônicos, representando cerca de 50% do volume ósseo (Hatchett, 1799). Esses minerais formam os cristais de hidroxiapatita (De Jong, 1926) que fornecem resistência à estrutura. Os compostos orgânicos, especialmente o colágeno (Hodge, 1963), representam 40% do volume ósseo e contribuem para a elasticidade da estrutura óssea (Schmidt, 1936). O restante do volume ósseo é ocupado por espaços celulares e canais vasculares (Platonov, 2008).

O processo de crescimento, desenvolvimento e manutenção óssea depende de uma interação complexa de células, incluindo osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e células de revestimento extracelular (Parfitt, 1994). Os osteoblastos são responsáveis pela síntese e calcificação do colágeno, enquanto os osteoclastos realizam a reabsorção do material ósseo. Essas células trabalham em conjunto para a construção, remodelação e manutenção do osso (Ansari, 2019) (Figura 1).

Figura 1 – Células ósseas (Ansari, 2019).



A osteogênese, processo de formação óssea, envolve uma sequência coordenada de eventos que resulta na geração de novo tecido ósseo. Existem dois principais métodos por meio dos quais os ossos se formam: a ossificação intramembranosa e a ossificação endocondral (Salhotra *et al.*, 2020).

Na ossificação intramembranosa, células mesenquimais indiferenciadas se transformam em osteoblastos, que produzem uma matriz extracelular rica em colágeno. Essa matriz é posteriormente mineralizada com cristais de hidroxiapatita (HAp), formando diretamente o osso no tecido conjuntivo ainda não especializado. Em contraste, na ossificação endocondral, o osso se desenvolve a partir de um modelo cartilaginoso preexistente. Inicialmente, forma-se um molde de cartilagem hialina, que é gradualmente substituído por tecido ósseo (Mallorie e Shine, 2022).

A ossificação endocondral é o mecanismo predominante na formação da maioria dos ossos do corpo, como os ossos longos, como o fêmur e o úmero. Durante esse processo, os condrócitos, células que compõem a cartilagem, proliferam e produzem uma matriz cartilaginosa, que, em seguida, sofre calcificação. O periósteo, que envolve o molde cartilaginoso, é invadido por vasos sanguíneos, permitindo que células mesenquimais e osteoblastos substituam a cartilagem por osso. O osso se forma a partir do centro do molde de cartilagem em direção às extremidades, levando ao desenvolvimento da epífise e diáfise (Mallorie e Shine, 2022).

Nos dois processos, os osteoblastos têm um papel essencial, sendo responsáveis pela produção e mineralização da matriz óssea, além de sintetizar colágeno e outros componentes importantes para a resistência e estrutura do osso. À medida que o osso se desenvolve, alguns osteoblastos se diferenciam em osteócitos, células maduras que ficam incorporadas na matriz e são responsáveis pela manutenção do tecido ósseo (Clarke, 2008).

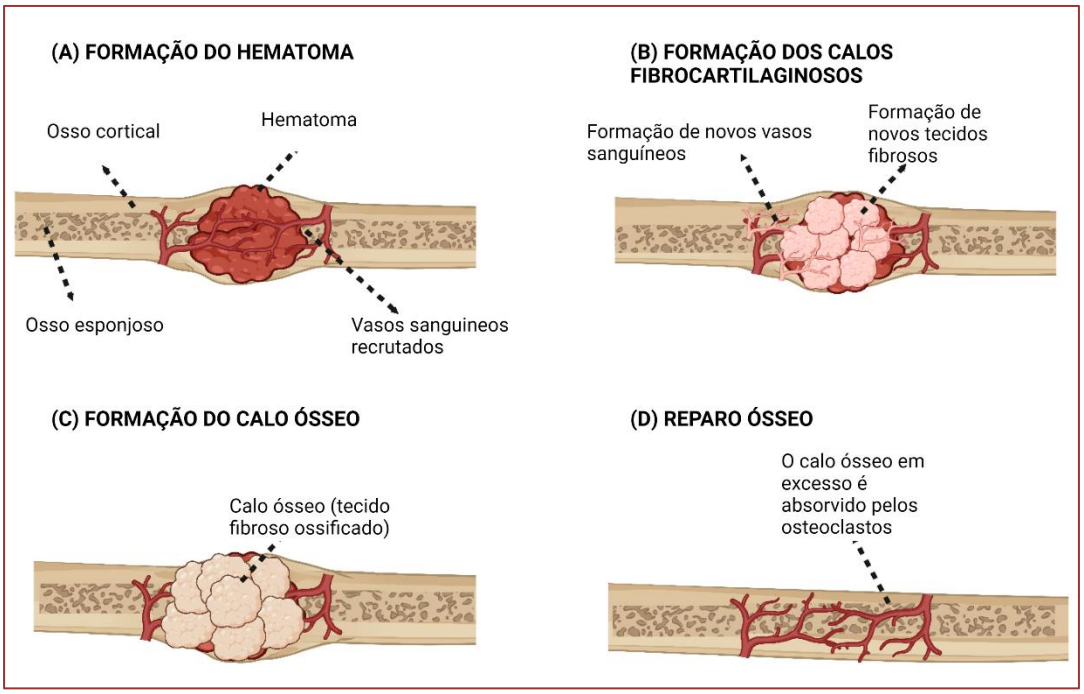
Os mecanismos de formação óssea e reparo de defeitos estão intimamente conectados. Durante a cicatrização de fraturas, os mesmos processos que controlam a osteogênese durante o desenvolvimento embrionário são reativados para regenerar o

osso danificado (Lopes *et al.*, 2018). O esqueleto possui uma capacidade única de se remodelar, ajustando-se às demandas de crescimento e às cargas mecânicas, por meio de atividades celulares rigidamente controladas (Hart *et al.*, 2020).

O defeito ósseo é uma perda ou deficiência da matriz óssea, geralmente causada por trauma ou intervenções cirúrgicas. O principal objetivo do tratamento é promover a regeneração óssea por meio da implantação de materiais de reparo ou de implantes no local afetado, facilitando o processo de cicatrização do osso (Xue *et al.*, 2022). O tecido ósseo possui a capacidade de se auto-reparar e regenerar, permitindo que pequenos defeitos cicatrizem normalmente sem a necessidade de intervenções adicionais (Parfitt, 1994). Entretanto, quando o defeito ósseo ultrapassa o tamanho crítico (geralmente > 2 cm) ou corresponde a mais de 50% da circunferência do osso, há um risco elevado de não união, má união ou fraturas patológicas (Liu *et al.*, 2023).

O reparo ósseo é um processo complexo e cuidadosamente regulado pelo organismo em resposta a lesões ou fraturas no tecido ósseo. Quando o dano ocorre, uma sequência de eventos é iniciada para restaurar tanto a integridade estrutural quanto a função biomecânica do osso. Esse processo envolve diferentes fases, como a formação de um hematoma, uma fase inflamatória, a criação de um calo fibrocartilaginoso, seguida de sua calcificação e, por fim, a remodelação óssea (Figura 2) (Abdelaziz, Ahmed G. *et al.*, 2023).

Figura 2 – Estágios do reparo da fratura: (A) hematoma; (B) formação de calos; (C) calo ósseo; (D) reparo (Abdelaziz, Ahmed G. *et al.*, 2023).



Inicialmente, o processo de reparação óssea começa com a formação de um hematoma no local da lesão, seguido pela chegada de células inflamatórias que liberam substâncias químicas para promover a regeneração. Depois disso, forma-se um calo fibrocartilaginoso, constituído por um tecido de granulação que oferece suporte

temporário ao osso fraturado. Com o tempo, esse calo é gradualmente substituído por osso novo por meio da calcificação, onde os osteoblastos depositam e mineralizam a matriz óssea. A fase final é a remodelação óssea, na qual osteoclastos reabsorvem o osso danificado enquanto os osteoblastos formam novo tecido ósseo, restaurando a estrutura original. Esse processo visa reestabelecer a integridade do osso e permitir a recuperação de sua função (Anani e Castillo, 2022).

Embora o osso tenha uma notável capacidade de regeneração, em alguns casos clínicos, a intervenção terapêutica é necessária (Loebel e Burdick, 2018). Apesar da habilidade natural do osso de se reparar e recuperar, há situações em que o dano excede o tamanho crítico que ele consegue reparar por conta própria, tornando as intervenções indispensáveis.

Nesses casos, a Engenharia de Tecido Ósseo (ETO) surge como uma solução promissora, oferecendo abordagens inovadoras para a regeneração e reparo de defeitos ósseos. Essa área está proporcionando avanços significativos, desenvolvendo tratamentos mais eficazes e personalizados para pacientes com grandes lesões ósseas (Liu *et al.*, 2023).

2.2. ESTIMULAÇÃO EXTERNA NA REGENERAÇÃO ÓSSEA

A engenharia de tecidos busca regenerar o osso utilizando *Scaffolds*, células e fatores de crescimento, com materiais osteoindutores desempenhando um papel decisivo no reparo ósseo. Esses materiais devem oferecer suporte estrutural, condutividade e indução óssea, promovendo adesão e proliferação celular, além de criar um ambiente 3D adequado à formação de vasos sanguíneos. Alguns biomateriais podem também modular a resposta imune, promovendo a regeneração óssea ao inibir a inflamação. Contudo, esses materiais apresentam limitações, como dificuldade de controle *in vivo* e baixa precisão de células no local do defeito, levando à necessidade de estímulos externos para otimizar o tratamento (Luo *et al.*, 2024).

A estimulação externa tem ganhado destaque como uma estratégia complementar para superar as limitações dos biomateriais osteoindutores no tratamento de defeitos ósseos. Essa abordagem envolve o uso de diferentes estímulos, como estimulação elétrica, com campos eletromagnéticos, ultrassom de baixa intensidade e estimulação mecânica, que podem melhorar a regeneração óssea ao influenciar a proliferação celular, a diferenciação de células-tronco e a remodelação do tecido. Por exemplo, estudos mostram que campos eletromagnéticos podem aumentar a expressão de genes osteogênicos e acelerar o processo de formação óssea (Yang *et al.*, 2023). Além disso, a estimulação mecânica, através de cargas aplicadas ao osso, tem sido associada à ativação de vias de sinalização celular que regulam a remodelação óssea (Banica *et al.*, 2022).

A principal vantagem da estimulação externa reside no fato de ser uma abordagem não invasiva, oferecendo uma alternativa interessante para o reparo ósseo. Enquanto os métodos tradicionais, como o transplante ósseo autólogo e alogênico, continuam sendo amplamente utilizados no tratamento de defeitos ósseos, eles enfrentam limitações significativas, como risco de rejeição imunológica, disponibilidade limitada de enxertos e custos elevados. A estimulação externa, por sua vez, minimiza esses problemas, proporcionando uma opção menos arriscada e mais acessível para promover a regeneração óssea de maneira eficaz (Luo *et al.*, 2024).

A aplicação de campo magnético é uma das formas de viabilizar a estimulação externa nos processos de regeneração óssea. As células são magneticamente sensíveis, e sua exposição à estimulação magnética em um campo magnético pode ativar uma série de sinais bioquímicos por meio de receptores relacionados para alterar a atividade celular. Para possibilitar a responsividade magnética das estruturas sintéticas implantadas no interior do defeito ósseo, a ETO tem desenvolvidos estudos com *Scaffolds* magnéticos, por meio dos quais consegue potencializar a multifuncionalidade dos *Scaffolds* com a incorporação de Nanopartículas Magnéticas (MNPs) (Hu *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2023).

As NMPs são uma classe de nanomateriais compostos por metais como ferro ou cobalto, que permitem sua manipulação através de um campo magnético externo. Essas partículas geralmente possuem um núcleo magnético envolto por uma cobertura biocompatível, e podem ter um revestimento adicional que oferece funcionalidade extra. O grande interesse nas NMPs vem de sua alta capacidade de modificação, permitindo ajustar seu tamanho, forma e revestimento de acordo com as necessidades específicas de cada aplicação. Essa flexibilidade torna suas propriedades físico-químicas personalizáveis, trazendo grande versatilidade ao campo da biomedicina. Além disso, sua biocompatibilidade natural tem permitido que as NMPs sejam amplamente utilizadas em diversas aplicações terapêuticas e diagnósticas como agentes de contraste em ressonância magnética, entrega de medicamentos direcionada por campo magnético e em tratamentos de hipertermia magnética, entre outros (Dasari *et al.*, 2022).

As NPMs podem auxiliar o transporte direto de medicamentos ou fatores de crescimento às células alojadas no *scaffold* (Shao *et al.*, 2022). Os biomateriais magnéticos, na forma de MNPs, são empregados como transportadores para o transporte de bioagentes dentro de *Scaffolds* magnéticos, gerando um campo magnético. Esses transportadores magnéticos liberam os bioagentes que carregam, facilitando sua absorção pelos tecidos ósseos durante o processo de regeneração. A utilização de materiais magnéticos à temperatura do corpo favorece um crescimento mais acelerado das células ósseas, aprimorando tanto a regeneração do tecido quanto a adesão das células ósseas (Ebrahimzadeh *et al.*, 2024).

A liberação controlada de fármacos é uma abordagem que busca concentrar os medicamentos diretamente no local patológico para tratamento. Comparada à administração tradicional, essa técnica permite reduzir a dose do medicamento, minimizar os efeitos colaterais em tecidos saudáveis e, ao mesmo tempo, diminuir significativamente os custos do tratamento. Um exemplo dessa aplicação é a microesfera magnética carregada com fatores de crescimento, onde partículas nanomagnéticas atuam em conjunto com um ímã para controlar a liberação do medicamento. Antibióticos, fatores de crescimento e microRNA e siRNA associados à osteogênese têm o potencial de melhorar o reparo de defeitos ósseos. Contudo, esses medicamentos não conseguem, por si só, atingir áreas específicas ou proporcionar um efeito reparador imediato. Nos últimos anos, pesquisadores têm buscado desenvolver sistemas mais eficazes de entrega de medicamentos, com o objetivo de minimizar efeitos adversos, reduzir a toxicidade e a perda de eficácia, além de aumentar o impacto terapêutico. Estudos demonstram que nanopartículas de óxido de ferro podem funcionar como transportadores eficientes, possibilitando o direcionamento preciso de moléculas terapêuticas com o auxílio de um campo magnético externo. A incorporação de medicamentos em transportadores magnéticos ou nanopartículas magnéticas representa uma abordagem simples e eficaz para administrar fármacos de maneira direcionada (Fan *et al.*, 2020).

2.3. CARVACROL

A associação dos *Scaffolds* magnéticos a fármacos naturais potencializam suas aplicações nos tratamentos da saúde devido às propriedades curativas, como atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas (Reisi-Vanani *et al.*, 2023). Uma modalidade de fármaco em amplo estudo, atualmente, são os óleos essenciais (OE), devido às suas propriedades terapêuticas, incluindo ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante, que podem ser aproveitadas no tratamento de diversas doenças.

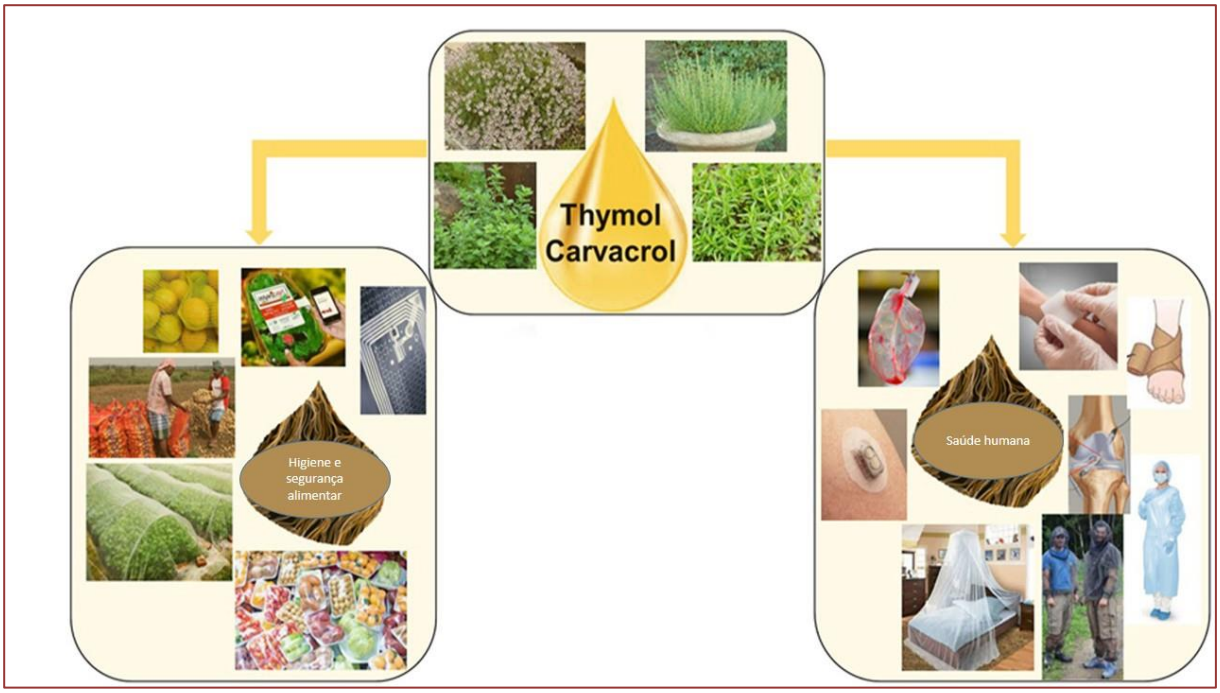
Os óleos essenciais (OE) derivados das plantas são um dos produtos agrícolas mais importantes, com grande potencial para tratamentos de saúde devido às propriedades curativas, como atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas; atualmente eles aparecem como substitutos adequados para drogas sintéticas. O efeito medicinal dos óleos essenciais provém de seus constituintes ativos, os dois mais abundantes são o timol e carvacrol (Bouchra *et al.*, 2003; Sapkota *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais são compostos por uma variedade de componentes bioativos que pertencem a diferentes classes químicas, incluindo terpenos, aldeídos, cetonas, álcoois, fenóis e ésteres. Atualmente, tanto os óleos essenciais como seus componentes bioativos isolados são amplamente utilizados para diversas finalidades. O carvacrol, um exemplo da classe fenólica dos óleos essenciais, é um isômero com características de um composto multifuncional (Özen *et al.*, 2024).

Os óleos essenciais são amplamente utilizados em aromatizantes de alimentos e bebidas, desodorantes, perfumes, produtos medicinais, farmacêuticos e pesticidas. O interesse crescente nos OEs de plantas deve-se à sua potente atividade antimicrobiana contra microrganismos patogênicos, incluindo bactérias e fungos resistentes a antibióticos, e ao fato de serem atóxicos, biodegradáveis, eficazes em pequenas quantidades e seguros para o público, animais e meio ambiente. Esses compostos naturais e voláteis são encontrados em ervas aromáticas e atuam como defesa contra predadores (Liao *et al.*, 2021).

O carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil)fenol) (CV) é um fenol monoterpenóide natural encontrado no óleo essencial de espécies de orégano, entre outras plantas, e exibe um amplo espectro antimicrobiano e antibiofilme contra bactérias, leveduras e fungos (Rathod *et al.*, 2021). Utilizado principalmente em produtos alimentícios por sua natureza aromatizante e conservante, e também tem aplicação significativa na indústria farmacêutica (Mansi *et al.*, 2024). A atividade anticancerígena do carvacrol ganhou reconhecimento recentemente (Almanaitytė *et al.*, 2020). Possui outras ações farmacológicas, como antioxidante (Han *et al.*, 2017), antimicrobiana (Liolios *et al.*, 2009), antibacteriana (Menniti *et al.*, 2010), anti-inflamatória (Landa *et al.*, 2009), atividades antivirais (Pilau *et al.*, 2011) e propriedades hepatoprotetoras (Aristatile *et al.*, 2009). A Comissão Europeia e a Food and Drug Administration (FDA) classificou o carvacrol como uma substância segura do ponto de vista toxicológico e sua aplicação é altamente atrativa como aditivo em alimentos (Figura 3).

Figura 3 – Carvacrol na saúde humana e na segurança alimentar (Özen *et al.*, 2024).



O carvacrol possui uma ampla gama de bioatividade útil para aplicações clínicas e foi aplicado com sucesso em artrite, cardioproteção, gastroproteção, hepatoproteção, neuroproteção, odontoproteção, endotoxemia, diabetes e obesidade (Mondal *et al.*, 2020). Devido à presença do grupo hidroxila livre, hidrofobicidade e fração fenol, as atividades medicinais do CV são mais fortes do que as de outros compostos voláteis presentes nos óleos essenciais (Sharifi-Rad *et al.*, 2018).

O carvacrol possui um ponto de ebulição entre 237 °C e 238 °C e uma densidade de 0,976 g/mL a 20 °C. Em temperatura ambiente, apresenta-se como um líquido amarelo claro, sendo facilmente solúvel em solventes como etanol, acetona e éter, além de ter baixa toxicidade. Sua natureza hidrofóbica se deve à presença de um anel benzênico e aos grupos metil e isopropil em sua estrutura. O carvacrol tem demonstrado forte atividade antibacteriana contra diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, o que está diretamente relacionado à sua hidrofobicidade. Por ser hidrofóbico, o CV tem baixa afinidade com a membrana celular, mas sua inserção pode alterar as propriedades físico-químicas da membrana, tornando-o uma molécula frequentemente utilizada em tratamentos. Além disso, sua ação antibacteriana está ligada à capacidade de romper membranas celulares bacterianas, reduzir a motilidade microbiana, inibir a atividade da ATPase bacteriana e bloquear a função da bomba de efluxo bacteriano (Zhang *et al.*, 2024).

O CV apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-hipertensivas, imunomoduladoras e anticancerígenas (Rathod *et al.*, 2021). O CV ajuda a reduzir o estresse oxidativo ao fornecer elétrons, interromper a cadeia de reações dos radicais livres durante a peroxidação lipídica, aumentar a atividade de enzimas antioxidantes endógenas e eliminar radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS). Sua elevada capacidade antioxidante, junto com a habilidade de promover a produção de óxido nítrico e inibir o influxo de cálcio, contribui para a prevenção da

hipertensão (Bagetta *et al.*, 2020). No campo da imunomodulação, o CV estimula a leucocitose, fortalecendo o sistema imunológico humoral. Além disso, o CV pode agir contra células cancerosas ao reduzir sua viabilidade e danificar seu material genético. Com base em pesquisas recentes, o papel biológico do CV e seu potencial terapêutico têm mostrado relevância clínica significativa (Escobar *et al.*, 2020).

Além da atividade antimicrobiana, o carvacrol demonstrou ser capaz de modular a fase inflamatória da cicatrização de feridas e promover a angiogênese e o crescimento das células hospedeiras (Costa *et al.*, 2019b). Embora o CV tenha excelente atividade antibacteriana e possa ser usado como uma alternativa aos antibióticos nas indústrias alimentícia, farmacêutica e outras, sua baixa solubilidade, baixa estabilidade química e biodisponibilidade limitada dificultam sua aplicação posterior (Zhao *et al.*, 2022).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A análise cientifica e tecnológica foi desenvolvida com base em artigos científicos experimentais publicados sobre a temática "*Scaffolds* antimicrobianos magnéticos de quitosana-hidroxiapatita para regeneração óssea". A revisão sistemática foi conduzida por meio do software Start (*State of the Art through Systematic Review*), desenvolvido pelo Laboratório de Pesquisa em Engenharia de Software (LAPES), do Departamento de Ciência da Computação da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). A busca por artigos científicos foi realizada em junho de 2024 por meio das plataformas *Science Direct* (Elsevier), *Pubmed* e *Web of Science* utilizando a string de busca: "*Scaffolds* AND carvacrol", sendo considerados artigos que apresentassem esses termos no título e/ou no resumo que foram publicados entre os anos de 2019 e 2024.

A presente revisão incluiu estudos originais revisados por pares que foram submetidos à critérios de elegibilidade. Os critérios de inclusão adotados foram: (1) Língua inglesa. (2) *Scaffolds* com uso de carvacrol. (3) *Scaffolds* magnéticos com uso de carvacrol. (4) Aplicação em regeneração óssea. Apenas artigos de pesquisa primária originais foram considerados, portanto, cartas, editoriais, artigos de revisão, conferências, patentes e resumos de reuniões e estudos que envolviam ETO foram excluídos.

Os artigos foram inicialmente selecionados para avaliação da elegibilidade com base nos critérios de inclusão e, posteriormente, o texto completo foi avaliado para determinar a relevância do trabalho para os investigadores quanto ao uso de carvacrol e partículas magnéticas no arcabouço produzido. Ao longo da seleção, foram extraídas as seguintes informações: tipos de *Scaffolds*, Carvacrol e tipo de atividade antimicrobiana, tipos de partículas magnéticas, métodos de avaliação, grupos investigados e principais resultados. Os artigos selecionados foram revisados, avaliados e discutidos pelos autores.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a remoção dos trabalhos que não faziam parte do escopo de pesquisa central e que não representavam o tratamento ósseo com *Scaffolds* de quitosana e hidroxiapatita, 60 artigos foram avaliados quanto aos critérios de elegibilidade. Com base na aplicação dos critérios observou-se que somente a *Science Direct* e a *Web of Science* reportaram publicações elegíveis, assim, 15 artigos foram incluídos na revisão de literatura, dos quais 89% foram identificados na *Science Direct* e 11% na *Web of Science,* não foram reportados estudos na plataforma PubMed.

Considerando a importância do estudo de *Scaffolds* magnéticos com carvacrol para aplicações em ETO, os artigos revisados foram resumidos, destacando os principais resultados obtidos por seus autores. Na fase de aplicação dos critérios de elegibilidade, com a leitura completa dos textos, os trabalhos foram classificados em sete grupos: Grupo 1 - *Scaffolds* com carvacrol; Grupo 2 - *Scaffolds* magnéticos com carvacrol; Grupo 3 - *Scaffolds* magnéticos com carvacrol para regeneração óssea; e Grupo 4 – Trabalhos fora do escopo da pesquisa. Não foram encontrados estudos relatando a construção de *Scaffolds* magnéticos com carvacrol, apenas trabalhos sem a presença de componentes magnéticos, o que reforça a inovação desse tema. No entanto, os estudos relacionados a *Scaffolds* com carvacrol foram sintetizados como base para o aprofundamento do conhecimento, com o objetivo de, futuramente, desenvolver *Scaffolds* magnéticos com carvacrol para ETO, buscando aproveitar todas as propriedades que o carvacrol pode oferecer.

Scaffaro *et al.* (2018) investiga o uso de carvacrol incorporado em membranas eletrofiadas de ácido polilático (PLA) para combater infecções causadas por *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Os autores demonstram que o carvacrol, um composto fenólico com reconhecida atividade antimicrobiana, é eficiente contra essas duas espécies, tanto em culturas isoladas quanto em culturas mistas. Eles observam que o carvacrol melhora as propriedades mecânicas das membranas de PLA, funcionando como plastificante e aumentando a flexibilidade do material. O estudo destaca que a liberação gradual de carvacrol das membranas PLA permite uma atividade antimicrobiana significativa por até 144 horas, com redução de 92-96% da produção de biofilme por *S. aureus* e 88-95% por *C. albicans*. O carvacrol também mostrou reduzir significativamente o número de células viáveis e a atividade metabólica em biofilmes já formados, tanto em infecções bacterianas quanto fúngicas, sugerindo seu potencial em tratamentos tópicos para infecções em pele e feridas.

Scaffaro *et al.* (2020) utilizaram o carvacrol (CRV) como um modelo de fármaco antimicrobiano. Eles incorporaram carvacrol em nanofibras eletrofiadas de ácido polilático (PLA) combinado com polietileno glicol (PEG) ou polietileno óxido (PEO). A concentração de carvacrol foi de 28% em relação à fase polimérica. Os autores investigaram a liberação controlada de carvacrol em soluções tampão salina (PBS) a 37°C, e os resultados foram ajustados a um modelo exponencial. O estudo concluiu que a taxa de liberação do carvacrol foi influenciada pela composição da mistura polimérica e pela morfologia das fibras. O PEG promoveu uma liberação mais rápida do carvacrol, aumentando a mobilidade das cadeias de PLA e facilitando a difusão do carvacrol. Por outro lado, o PEO retardou a liberação devido à sua tendência a formar uma morfologia mais densa, especialmente em concentrações mais altas, o que reduziu a área de superfície disponível para a liberação do fármaco. Essas propriedades tornam o PEG mais adequado para sistemas que requerem uma liberação rápida de drogas, enquanto o PEO é mais apropriado para uma liberação sustentada.

Barzegar *et al.* (2021) descreveu o desenvolvimento de *Scaffolds* de nanofibras com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. O carvacrol foi um dos principais componentes ativos identificados no óleo essencial de *Satureja mutica* (64,036%) e *Oliveria decumbens* (18,77%). Esses óleos essenciais, ricos em carvacrol, foram encapsulados nos *Scaffolds* de nanofibras, aumentando suas atividades antimicrobianas e antioxidantes. O carvacrol contribuiu significativamente para a eficácia dos *Scaffolds* contra bactérias e fungos, mostrando atividade potencial para promover a cicatrização de feridas.

Beikzadeh *et al.* (2021) utilizaram o óleo essencial de Zataria multiflora (ZEO), composto principalmente por carvacrol (33,85%) e timol (23,18%). Esses compostos fenólicos são responsáveis pelas atividades antimicrobianas e antioxidantes do ZEO. O ZEO foi incorporado em nanofibras de celulose etílica (ECL)/policaprolactona (PCL)/gelatina (GEL), que foram testadas para propriedades mecânicas, térmicas e bioativas. As fibras eletrofiadas com 30% e 50% de ZEO apresentaram alta atividade antioxidante (até 34,61%) e propriedades antifúngicas, sendo eficazes contra *Penicillium notatum e Aspergillus niger*. A presença de carvacrol no ZEO foi essencial para o desempenho antioxidante, agindo como sequestrante de radicais livres e inibidor de microrganismos.

Farto-Vaamonde *et al.* (2022) explorou a aplicação do carvacrol, um composto natural com propriedades antibacterianas, no desenvolvimento de *Scaffolds* de PLA (ácido polilático) impressos em 3D para regeneração de tecido ósseo e prevenção de biofilme. O carvacrol foi incorporado aos *Scaffolds* por dois métodos: carregamento antes ou após a impressão 3D. Os resultados demonstraram que a liberação do carvacrol depende do método de incorporação, com perfis bifásicos de liberação. *Scaffolds* carregados após a impressão apresentaram liberação rápida, enquanto os carregados antes apresentaram liberação prolongada. A integração dos *Scaffolds* no tecido e a formação de novos vasos sanguíneos foram avaliadas usando o modelo CAM (membrana corioalantoica). Além disso, o carvacrol mostrou eficácia na inibição de biofilmes bacterianos, especialmente contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, sem comprometer a angiogênese. Assim, o estudo sugere que o carvacrol pode ser usado como um agente antibiofilme eficaz em *Scaffolds* para regeneração óssea, promovendo a cicatrização sem efeitos tóxicos significativos.

Mbese *et al.* (2022) investigou compostos híbridos contendo o carvacrol. Foram sintetizados sete compostos híbridos de carvacrol utilizando diferentes farmacóforos. Os resultados mostraram que o composto 5 exibiu a melhor atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Já o composto 3 se destacou por sua citotoxicidade significativa contra as linhas celulares cancerígenas MCF-7, MDA-MB-231 e DU145. O estudo conclui que a modificação do carvacrol por hibridização pode gerar compostos com atividades terapêuticas promissoras.

Satpayeva *et al.* (2022) examinou o uso de carvacrol no desenvolvimento de *Scaffolds* de policaprolactona (PCL) e PCL-hidroxiapatita (PCL-HA) com potencial para aplicações em engenharia de tecidos. Utilizando dióxido de carbono supercrítico (scCO2), o processo combinou a formação de poros (foaming) com a impregnação simultânea de carvacrol, um composto antimicrobiano natural eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A pesquisa avaliou o impacto da temperatura (40°C e 50°C), conteúdo de hidroxiapatita (10% e 20%), e o tipo de descompressão na morfologia dos *Scaffolds*, incluindo a porosidade e o rendimento de impregnação de carvacrol. Os resultados mostraram que o conteúdo de HA aumentou o rendimento de impregnação, com o maior valor obtido para *Scaffolds* contendo 10% de HA a 50°C. O carvacrol reduziu a porosidade dos *Scaffolds*, mas manteve sua eficácia antimicrobiana, sendo indicado como um material promissor para engenharia de tecidos, especialmente no combate a infecções em sítios cirúrgicos.

Khaksarian *et al.* (2022) investigou os efeitos restauradores de nanopartículas de dióxido de titânio (TiO_2 NPs) sintetizadas a partir de *Origanum vulgare*, carvacrol, *Hypericum perforatum* e hipericina em feridas infectadas por *Staphylococcus aureus* em ratos diabéticos. No estudo, o carvacrol foi utilizado para sintetizar as nanopartículas de

TiO_2, que foram então carregadas em um scaffold de alginato de cálcio e aplicadas em feridas infectadas dos ratos. Essas nanopartículas demonstraram eficácia na redução da carga microbiana e na inflamação, promovendo a cicatrização de feridas diabéticas. Os resultados mostraram que o tratamento com TiO_2 NPs sintetizadas com carvacrol reduziu significativamente o diâmetro da ferida ao longo de 21 dias, comprovando seu potencial antimicrobiano e anti-inflamatório.

Lazarević *et al.* (2022) sintetizou derivados de carvacrol, com foco em esteres carvacílicos, e de suas atividades antifúngicas. Os autores realizaram modificações químicas no carvacrol, um conhecido biocida e aditivo alimentar, para melhorar suas propriedades biológicas. Eles sintetizaram 25 esteres de carvacrol e avaliaram sua atividade antimicrobiana em testes *in vitro* e realizaram estudos *in silico* para prever propriedades fisicoquímicas, farmacocinéticas e toxicológicas. Os derivados do carvacrol demonstraram atividade antifúngica significativa contra *Aspergillus niger* e *Candida albicans*, com resultados comparáveis ao carvacrol puro. A pesquisa também sugere que as modificações estruturais feitas nos derivados de carvacrol podem ser promissoras no desenvolvimento de agentes antimicrobianos mais potentes.

El Fawal e Abu-Serie (2022) encapsularam o óleo de carvacrol em nanofibras de polifluoreto de vinilideno (PVDF) por meio da técnica de eletrofiação, com o objetivo de preservar suas propriedades bioativas e aumentar sua estabilidade, uma vez que os óleos essenciais são voláteis e degradam facilmente. As nanofibras OEO@PVDF apresentaram alta atividade antioxidante e eficácia anticancerígena, mesmo após 6 meses de armazenamento à temperatura ambiente, superando o desempenho do OEO não encapsulado. A incorporação de carvacrol contribuiu significativamente para a atividade antioxidante e para a indução de apoptose em células cancerígenas, com potencial para aplicações em tratamento anticancerígeno.

Razack *et al.* (2023) explorou o uso de carvacrol destacando suas propriedades antioxidantes, antibacterianas e anti-inflamatórias. O carvacrol é mencionado como sendo um dos compostos responsáveis pela atividade antimicrobiana do OEO, atuando através da alteração da integridade da membrana celular de bactérias como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, o que leva à lise celular e à morte bacteriana. Além disso, os autores também discutem a utilização do carvacrol em formulações nanoemulsionadas para aplicação em feridas. O estudo demonstra que essas nanoemulsões contendo carvacrol e outros compostos do óleo de orégano são eficazes na promoção da cicatrização de feridas, especialmente em condições de diabetes, onde a recuperação de lesões é dificultada. O carvacrol, portanto, desempenha um papel central no desenvolvimento de tratamentos baseados em produtos naturais para o manejo de infecções bacterianas e cicatrização de feridas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O carvacrol mostrou-se promissor em várias aplicações terapêuticas, incluindo atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias. Sua eficácia foi comprovada em diversos estudos para o combate de infecções bacterianas e fúngicas, bem como para a promoção da cicatrização de feridas, especialmente em casos de condições complicadas como diabetes.
- Não foram encontrados estudos que combinam carvacrol e *Scaffolds* magnéticos, o que aponta uma lacuna na literatura e uma oportunidade de inovação. No entanto,

o carvacrol tem sido usado com sucesso em *Scaffolds* antimicrobianos sem componentes magnéticos, com foco em sua capacidade de prevenir infecções e estimular a regeneração tecidual.

- A incorporação do carvacrol em diferentes matrizes poliméricas, como PLA e nanofibras eletrofiadas, possibilita a liberação controlada do composto. Dependendo da composição do scaffold, a liberação pode ser rápida ou sustentada, o que permite adaptações específicas para diferentes aplicações, como sistemas de liberação de fármacos ou regeneração tecidual.
- A ausência de estudos que utilizem carvacrol em *Scaffolds* magnéticos abre espaço para pesquisas futuras. A combinação de carvacrol com *Scaffolds* magneticamente responsivos tem potencial para criar estruturas bioativas avançadas, que poderiam melhorar a osteogênese e combater infecções em contextos de regeneração óssea.
- Em diversos estudos, o carvacrol demonstrou eficácia no combate a patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, com redução significativa na formação de biofilmes e na viabilidade de células patogênicas. Isso evidencia o seu potencial como agente antibiofilme e antimicrobiano em *Scaffolds* usados na medicina regenerativa.
- O uso do carvacrol em combinação com polímeros, como PLA e PCL, melhora as propriedades mecânicas e a biocompatibilidade dos *Scaffolds*. Essa interação torna o carvacrol uma excelente adição para aprimorar a flexibilidade e resistência dos materiais, sem comprometer sua funcionalidade biológica.
- Dado o sucesso do carvacrol como agente terapêutico em várias formulações, futuras investigações devem focar em *Scaffolds* magnéticos que integrem carvacrol. Isso poderia resultar em sistemas mais eficazes para regeneração óssea e tratamentos de infecções pós-cirúrgicas, aproveitando tanto suas propriedades antimicrobianas quanto sua capacidade de induzir osteogênese.

REFERÊNCIAS

[1] ABDELAZIZ, A. G.; NAGEH, H.; ABDO, S. M.; ABDALLA, M. S.; AMER, A. A.; ABDAL-HAY, A.; BARHOUM, A. A Review of 3D Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Principles, Fabrication Techniques, Immunomodulatory Roles, and Challenges. **Bioengineering (Basel),** v. 10, n. 2, 2023. doi: 10.3390/bioengineering10020204

[2] ABDELAZIZ, A. G.; NAGEH, H.; ABDO, S. M.; ABDALLA, M. S.; AMER, A. A.; ABDAL-HAY, A.; BARHOUM, A. **A Review of 3D Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Principles, Fabrication Techniques, Immunomodulatory Roles, and Challenges**. Bioengineering. 10 2023.

[3] ALMANAITYTĖ, M.; JUREVIČIUS, J.; MAČIANSKIENĖ, R. Effect of Carvacrol, TRP Channels Modulator, on Cardiac Electrical Activity. **Biomed Res Int,** v. 2020, p. 6456805, 2020. doi: 10.1155/2020/6456805

[4] ANANI, T.; CASTILLO, A. B. Mechanically-regulated bone repair. **Bone,** v. 154, p. 116223, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116223

[5] ANSARI, M. Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. **Progress in Biomaterials,** v. 8, n. 4, p. 223-237, 2019. doi: https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z

[6] ARISTATILE, B.; AL-NUMAIR, K. S.; VEERAMANI, C.; PUGALENDI, K. V. Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. **Fundam Clin Pharmacol,** v. 23, n. 6, p. 757-65, 2009. doi: 10.1111/j.1472-8206.2009.00721.x

[7] BAGETTA, D.; MARUCA, A.; LUPIA, A.; MESITI, F.; CATALANO, R.; ROMEO, I.; MORACA, F.; AMBROSIO, F. A.; COSTA, G.; ARTESE, A.; ORTUSO, F.; ALCARO, S.; ROCCA, R. Mediterranean products as promising source of multi-target agents in the treatment of metabolic syndrome. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 186, p. 111903, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111903

[8] BANICA, T.; VERROKEN, C.; T'SJOEN, G.; GOEMAERE, S.; ZMIERCZAK, H. G.; FIERS, T.; KAUFMAN, J. M.; LAPAUW, B. Modest Changes in Sex Hormones During Early and Middle Adulthood Affect Bone Mass and Size in Healthy Men: A Prospective Cohort Study. **Journal of Bone and Mineral Research,** v. 37, n. 5, p. 865-875, 2022. doi: 10.1002/jbmr.4543

[9] BARZEGAR, S.; ZARE, M. R.; SHOJAEI, F.; ZARESHAHRABADI, Z.; KOOHI-HOSSEINABADI, O.; SAHARKHIZ, M. J.; IRAJI, A.; ZOMORODIAN, K.; KHORRAM, M. Core-shell chitosan/PVA-based nanofibrous scaffolds loaded with Satureja mutica or Oliveria decumbens essential oils as enhanced antimicrobial wound dressing. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 597, p. 120288, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120288

[10] BEIKZADEH, S.; HOSSEINI, S. M.; MOFID, V.; RAMEZANI, S.; GHORBANI, M.; EHSANI, A.; MORTAZAVIAN, A. M. Electrospun ethyl cellulose/poly caprolactone/gelatin nanofibers: The investigation of mechanical, antioxidant, and antifungal properties for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 191, p. 457-464, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.065

[11] BIGHAM, A.; AGHAJANIAN, A. H.; BEHZADZADEH, S.; SOKHANI, Z.; SHOJAEI, S.; KAVIANI, Y.; HASSANZADEH-TABRIZI, S. A. Nanostructured magnetic Mg2SiO4-CoFe2O4 composite scaffold with multiple capabilities for bone tissue regeneration. **Materials Science and Engineering: C,** v. 99, p. 83-95, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.096

[12] BIN, S.; WANG, A.; GUO, W.; YU, L.; FENG, P. **Micro Magnetic Field Produced by Fe3O4 Nanoparticles in Bone Scaffold for Enhancing Cellular Activity**. Polymers. 12 2020.

[13] BOUCHRA, C.; ACHOURI, M.; IDRISSI HASSANI, L. M.; HMAMOUCHI, M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botrytis cinerea Pers: Fr. **Journal of Ethnopharmacology,** v. 89, n. 1, p. 165-169, 2003. doi: https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00275-7

[14] CLARKE, B. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical journal of the American Society of Nephrology,** v. 3, n. Supplement 3, p. S131-S139, 2008. doi: https://doi.org/10.2215/CJN.04151206

[15] COSTA, M. F.; DURÇO, A. O.; RABELO, T. K.; BARRETO, R. S. S.; GUIMARÃES, A. G. Effects of Carvacrol, Thymol and essential oils containing such monoterpenes on wound healing: a systematic review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology,** v. 71, n. 2, p. 141-155, 2019a. doi: 10.1111/jphp.13054

[16] _____. Effects of Carvacrol, Thymol and essential oils containing such monoterpenes on wound healing: a systematic review. **J Pharm Pharmacol,** v. 71, n. 2, p. 141-155, 2019b. doi: 10.1111/jphp.13054

[17] DASARI, A.; XUE, J.; DEB, S. Magnetic Nanoparticles in Bone Tissue Engineering. **Nanomaterials (Basel),** v. 12, n. 5, 2022. doi: 10.3390/nano12050757

[18] DE JONG, W. F. La Substance Minérale Dans les Os. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas,** v. 45, n. 6, p. 445-448, 1926. doi: 10.1002/recl.19260450613

[19] EBRAHIMZADEH, M. H.; NAKHAEI, M.; GHARIB, A.; MIRBAGHERI, M. S.; MORADI, A.; JIROFTI, N. Investigation of background, novelty and recent advance of iron (II,III) oxide- loaded on 3D polymer based scaffolds as regenerative implant for bone tissue engineering: A review. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 259, p. 128959, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128959

[20] EL FAWAL, G.; ABU-SERIE, M. M. Bioactive properties of nanofibers based on poly(vinylidene fluoride) loaded with oregano essential oil: Fabrication, characterization and biological evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 69, p. 103133, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103133

[21] ESCOBAR, A.; PÉREZ, M.; ROMANELLI, G.; BLUSTEIN, G. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 13, n. 12, p. 9243-9269, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009

[22] FAN, D.; WANG, Q.; ZHU, T.; WANG, H.; LIU, B.; WANG, Y.; LIU, Z.; LIU, X.; FAN, D.; WANG, X. Recent Advances of Magnetic Nanomaterials in Bone Tissue Repair. **Front Chem,** v. 8, p. 745, 2020. doi: 10.3389/fchem.2020.00745

[23] FARTO-VAAMONDE, X.; DIAZ-GOMEZ, L.; PARGA, A.; OTERO, A.; CONCHEIRO, A.; ALVAREZ-LORENZO, C. Perimeter and carvacrol-loading regulate angiogenesis and biofilm growth in 3D printed PLA scaffolds. **Journal of Controlled Release,** v. 352, p. 776-792, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.10.060

[24] HAN, F.; MA, G. Q.; YANG, M.; YAN, L.; XIONG, W.; SHU, J. C.; ZHAO, Z. D.; XU, H. L. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano. **J Zhejiang Univ Sci B,** v. 18, n. 1, p. 79-84, 2017. doi: 10.1631/jzus.B1600377

[25] HART, N. H.; NEWTON, R. U.; TAN, J.; RANTALAINEN, T.; CHIVERS, P.; SIAFARIKAS, A.; NIMPHIUS, S. Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions,** v. 20, n. 3, p. 347-371, 2020. doi:

[26] HATCHETT, C. Experiments and observations on shell and bone. **Philosophical Transactions,** v. 89, p. 315-334, 1799. doi:

[27] HODGE, A. J. Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. **Aspects of protein structure**, p. 289-300, 1963. doi:

[28] HU, X.; LIU, W.; SUN, L.; XU, S.; WANG, T.; MENG, J.; WEN, T.; LIU, Q.; LIU, J.; XU, H. Magnetic Nanofibrous Scaffolds Accelerate the Regeneration of Muscle Tissue in Combination with Extra Magnetic Fields. **Int J Mol Sci,** v. 23, n. 8, 2022. doi: 10.3390/ijms23084440

[29] JOHNSON, C. T.; GARCÍA, A. J. Scaffold-based anti-infection strategies in bone repair. **Ann Biomed Eng,** v. 43, n. 3, p. 515-28, 2015. doi: 10.1007/s10439-014-1205-3

[30] KHAKSARIAN, M.; BAHMANI, M.; TAHERIKALANI, M.; ASHRAFI, B.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; ABBASI, N. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using Hypericum perforatum and Origanum vulgare extracts and their main components, hypericin and carvacrol as promising antibacterial agents. **J Tradit Chin Med,** v. 42, n. 2, p. 167-175, 2022. doi: 10.19852/j.cnki.jtcm.2022.02.002

[31] LANDA, P.; KOKOSKA, L.; PRIBYLOVA, M.; VANEK, T.; MARSIK, P. In vitro anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E(2) biosynthesis. **Arch Pharm Res,** v. 32, n. 1, p. 75-8, 2009. doi: 10.1007/s12272-009-1120-6

[32] LAZAREVIĆ, J.; MARKOVIĆ, A.; ŠMELCEROVIĆ, A.; STOJANOVIĆ, G.; CIUFFREDA, P.; SANTANIELLO, E. Carvacrol Derivatives as Antifungal Agents: Synthesis, Antimicrobial Activity and in Silico Studies on Carvacryl Esters. **Acta Chimica Slovenica,** v. 69, n. 3, p. 571-583, 2022. doi: 10.17344/acsi.2022.7438

[33] LI, X.; SAEED, S.-S.; BENI, M. H.; MOROVVATI, M. R.; ANGILI, S. N.; TOGHRAIE, D.; KHANDAN, A.; KHAN, A. Experimental measurement and simulation of mechanical strength and biological behavior of porous bony scaffold coated with alginate-hydroxyapatite for femoral applications. **Composites Science and Technology,** v. 214, p. 108973, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2021.108973

[34] LIAO, W.; BADRI, W.; DUMAS, E.; GHNIMI, S.; ELAISSARI, A.; SAUREL, R.; GHARSALLAOUI, A. **Nanoencapsulation of Essential Oils as Natural Food Antimicrobial Agents: An Overview**. Applied Sciences. 11 2021.

[35] LIOLIOS, C. C.; GORTZI, O.; LALAS, S.; TSAKNIS, J.; CHINOU, I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of Origanum dictamnus L. and in vitro antimicrobial activity. **Food Chemistry,** v. 112, n. 1, p. 77-83, 2009. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.060

[36] LIU, F.; SUN, T.; AN, Y.; MING, L.; LI, Y.; ZHOU, Z.; SHANG, F. The potential therapeutic role of extracellular vesicles in critical-size bone defects: Spring of cell-free regenerative medicine is coming. v. 11, 2023. doi: 10.3389/fbioe.2023.1050916

[37] LOEBEL, C.; BURDICK, J. A. Engineering Stem and Stromal Cell Therapies for Musculoskeletal Tissue Repair. **Cell Stem Cell,** v. 22, n. 3, p. 325-339, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.01.014

[38] LOPES, D.; MARTINS-CRUZ, C.; OLIVEIRA, M. B.; MANO, J. F. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. **Biomaterials,** v. 185, p. 240-275, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.09.028

[39] LUO, T.; TAN, B.; LIAO, J.; SHI, K.; NING, L. A review on external physical stimuli with biomaterials for bone repair. **Chemical Engineering Journal,** v. 496, p. 153749, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.153749

[40] MAIA, F. R.; BASTOS, A. R.; OLIVEIRA, J. M.; CORRELO, V. M.; REIS, R. L. Recent approaches towards bone tissue engineering. **Bone,** v. 154, p. 116256, 2022. doi: 10.1016/j.bone.2021.116256

[41] MALLORIE, A.; SHINE, B. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. **Surgery (Oxford),** v. 40, n. 3, p. 163-168, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2021.12.001

[42] MANSI; GARG, V.; SAHU, B. D. Carvacrol and its effect on cardiovascular diseases: From molecular mechanism to pharmacological modulation. **Food Bioscience,** v. 57, p. 103444, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103444

[43] MBESE, Z.; NELL, M.; FONKUI, Y. T.; NDINTEH, D. T.; STEENKAMP, V.; ADERIBIGBE, B. A. Hybrid Compounds Containing Carvacrol Scaffold: In Vitro Antibacterial and Cytotoxicity Evaluation. **Recent Adv Antiinfect Drug Discov,** v. 17, n. 1, p. 54-68, 2022. doi: 10.2174/1574891x16666220124122445

[44] MENNITI, A. M.; GREGORI, R.; NERI, F. Activity of natural compounds on Fusarium verticillioides and fumonisin production in stored maize kernels. **Int J Food Microbiol,** v. 136, n. 3, p. 304-9, 2010. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.008

[45] MONDAL, A.; BOSE, S.; MAZUMDER, K.; KHANRA, R. J. A. S. M. Carvacrol (Origanum vulgare): Therapeutic Properties and Molecular Mechanisms. 2020. doi:

[46] ÖZEN, İ.; DEMIR, A.; BAHTIYARI, M. İ.; WANG, X.; NILGHAZ, A.; WU, P.; SHIRVANIMOGHADDAM, K.; NAEBE, M. Multifaceted applications of thymol/carvacrol-containing polymeric fibrous structures. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research,** v. 7, n. 2, p. 182-200, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2023.09.001

[47] PALTANEA, G.; MANESCU, V.; ANTONIAC, I.; ANTONIAC, A.; NEMOIANU, I. V.; ROBU, A.; DURA, H. **A Review of Biomimetic and Biodegradable Magnetic Scaffolds for Bone Tissue Engineering and Oncology**. International Journal of Molecular Sciences. 24 2023.

[48] PARANHOS, R. C. S.; RIBEIRO, N. M. Importância da Prospecção Tecnológica em Base de Patentes e seus Objetivos da Busca. **Cadernos de Prospecção,** v. 11, n. 5, p. 1274, 2018. doi: 10.9771/cp.v11i5.28190

[49] PARFITT, A. M. The two faces of growth: benefits and risks to bone integrity. **Osteoporos Int,** v. 4, n. 6, p. 382-98, 1994. doi: https://doi.org/10.1007/bf01622201

[50] PILAU, M. R.; ALVES, S. H.; WEIBLEN, R.; ARENHART, S.; CUETO, A. P.; LOVATO, L. T. Antiviral activity of the Lippia graveolens (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. **Brazilian Journal of Microbiology,** v. 42, 2011. doi:

[51] PLATONOV, V. N. **Tratado geral de treinamento desportivo**. Phorte, 2008. ISBN 8576551330.

[52] RAHMAN, M. M.; SHAHRUZZAMAN, M.; ISLAM, M. S.; KHAN, M. N.; HAQUE, P. Preparation and properties of biodegradable polymer/nano-hydroxyapatite bioceramic scaffold for spongy bone regeneration. **Journal of Polymer Engineering,** v. 39, n. 2, p. 134-142, 2019. doi: doi:10.1515/polyeng-2018-0103

[53] RATHOD, N. B.; KULAWIK, P.; OZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M.; OZOGUL, Y. Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. **Trends in Food Science & Technology,** v. 116, p. 733-748, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.023

[54] RAZACK, S. A.; LEE, Y.; SHIN, H.; DURAIARASAN, S.; CHUN, B.-S.; KANG, H. W. Cellulose nanofibrils reinforced chitosan-gelatin based hydrogel loaded with nanoemulsion of oregano essential oil for diabetic wound healing assisted by low level laser therapy. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 226, p. 220-239, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.003

[55] REISI-VANANI, V.; HOSSEINI, S.; SOLEIMAN-DEHKORDI, E.; NOAIEN BOROUJENI, S.; FARZAN, M.; EBANI, V. V.; GHOLIPOURMALEKABADI, M.; LOZANO, K.; LORIGOOINI, Z. Engineering of a core-shell polyvinyl alcohol/gelatin fibrous scaffold for dual delivery of Thymus daenensis essential oil and Glycyrrhiza glabra L. extract as an antibacterial and functional wound dressing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 81, p. 104282, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104282

[56] SALHOTRA, A.; SHAH, H. N.; LEVI, B.; LONGAKER, M. T. Mechanisms of bone development and repair. **Nature Reviews Molecular Cell Biology,** v. 21, n. 11, p. 696-711, 2020. doi: 10.1038/s41580-020-00279-w

[57] SAPKOTA, M.; LI, L.; KIM, S.-W.; SOH, Y. Thymol inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis in RAW264.7 and BMM cells and LPS-induced bone loss in mice. **Food and Chemical Toxicology,** v. 120, p. 418-429, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.032

[58] SATPAYEVA, A.; ROJAS, A.; TYRKA, M.; KSEPKO, E.; GALOTTO, M. J.; ZIZOVIC, I. **Supercritical Foaming and Impregnation of Polycaprolactone and Polycaprolactone-Hydroxyapatite Composites with Carvacrol**. Processes. 10 2022.

[59] SCAFFARO, R.; EMMANUEL FORTUNATO, G.; LOPRESTI, F. Structure–property relationship and controlled drug release from multiphasic electrospun carvacrol-embedded polylactic acid/polyethylene glycol and polylactic acid/polyethylene oxide nanofiber mats. **Journal of Industrial Textiles,** v. 49, p. 152808371880135, 2020. doi: 10.1177/1528083718801359

[60] SCAFFARO, R.; LOPRESTI, F.; D'ARRIGO, M.; MARINO, A.; NOSTRO, A. Efficacy of poly(lactic acid)/carvacrol electrospun membranes against Staphylococcus aureus and Candida albicans in single and mixed cultures. **Appl Microbiol Biotechnol,** v. 102, n. 9, p. 4171-4181, 2018. doi: 10.1007/s00253-018-8879-7

[61] SCHMIDT, W. I. Über die Orientierung der Kristallite im Zahnschmelz. **Die Naturwissenschaften,** v. 24, n. 23, p. 361, 1936. doi: 10.1007/BF01473678

[62] SHAO, H.; WU, J.; WANG, S.; DUAN, J.; ZHANG, Y.; PENG, J.; LIN, T. 3D gel-printing of porous MgFe2O4 magnetic scaffolds for bone tissue engineering. **Ceramics International,** v. 48, n. 5, p. 7183-7191, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.11.279

[63] SHARIFI-RAD, M.; VARONI, E. M.; IRITI, M.; MARTORELL, M.; SETZER, W. N.; DEL MAR CONTRERAS, M.; SALEHI, B.; SOLTANI-NEJAD, A.; RAJABI, S.; TAJBAKHSH, M.; SHARIFI-RAD, J. Carvacrol and human health: A comprehensive review. **Phytother Res,** v. 32, n. 9, p. 1675-1687, 2018. doi: 10.1002/ptr.6103

[64] XUE, N.; DING, X.; HUANG, R.; JIANG, R.; HUANG, H.; PAN, X.; MIN, W.; CHEN, J.; DUAN, J.-A.; LIU, P.; WANG, Y. **Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects**. Pharmaceuticals. 15 2022.

[65] YAN, Z.; SUN, T.; TAN, W.; WANG, Z.; YAN, J.; MIAO, J.; WU, X.; FENG, P.; DENG, Y. Magnetic Field Boosts the Transmembrane Transport Efficiency of Magnesium Ions from PLLA Bone Scaffold. **Small,** v. n/a, n. n/a, p. 2301426, 2023. doi: https://doi.org/10.1002/smll.202301426

[66] YANG, J.; FENG, Y.; LI, Q.; ZENG, Y. Evidence of the static magnetic field effects on bone-related diseases and bone cells. **Progress in Biophysics and Molecular Biology,** v. 177, p. 168-180, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.11.006

[67] ZHANG, C.; LI, Z.; HU, D. Carvacrol antibacterial nanomaterials and their medical applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 97, p. 105779, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105779

[68] ZHAO, W.; ZHANG, Y.; LIU, L.; GAO, Y.; SUN, W.; SUN, Y.; MA, Q. Microfluidic-based functional materials: new prospects for wound healing and beyond. **Journal of Materials Chemistry B,** v. 10, n. 41, p. 8357-8374, 2022. doi: 10.1039/D2TB01464E

Capítulo 6

Síntese de hidroxiapatita por reação de combustão

Renally Gomes Araujo
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Ana Flávia Félix Farias

Resumo: Atualmente, o desenvolvimento de biomateriais é uma necessidade crescente para uma vasta gama de aplicações tecnológicas na área da saúde. Dentre esses materiais, a hidroxiapatita (HAp) destaca-se pelo seu grande interesse científico e tecnológico, sendo o principal componente mineral natural de ossos e dentes. Suas propriedades, como elevada biocompatibilidade e osteocondução, tornam-na ideal para diversas aplicações biomédicas. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo a síntese de HAp pelo método de combustão em diferentes escalas piloto de produção, utilizando ureia como combustível, com foco na avaliação de suas propriedades para uso na biomedicina. Durante o processo, foram analisadas variáveis reacionais, como temperatura e tempo de combustão. Os produtos obtidos foram caracterizados por difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise textural por Brunauer-Emmett-Teller (BET). Os resultados confirmaram que o método de combustão é eficiente para a síntese de HAp em escala piloto, gerando com sucesso a fase majoritária, além das fases secundárias β-TCP e monetita, com características cristalinas, químicas e morfológicas típicas de produtos sintetizados por combustão. Em relação à análise biológica, a HAp sintetizada em escala piloto mostrou-se reprodutível e não citotóxica, apresentando grande potencial para produção industrial e aplicação tecnológica na biomedicina, o que reforça sua viabilidade comercial.

Palavras-chaves: biomateriais; escala piloto; síntese de combustão; nanomateriais.

1. INTRODUÇÃO

A contemporaneidade tem testemunhado um notável avanço em abordagens sintéticas voltadas à criação de novos materiais biocerâmicos de relevância socioeconômica, o que, por sua vez, tem impulsionado a busca pelo desenvolvimento de dispositivos biomédicos, enxertos e implantes destinados à engenharia de tecidos e a outros procedimentos clínicos (Ingole *et al*., 2017; Sundarabharathi *et al*., 2020).

O aumento na demanda por enxertos ósseos, em função de acidentes e doenças, tem colocado a ortopedia diante de desafios como a necessidade de materiais que apresentem longa durabilidade e alta biocompatibilidade para uso em implantes, especialmente em pacientes. Nesse contexto, torna-se imperativo o desenvolvimento contínuo de implantes ideais, que possuam propriedades essenciais, como: ação antimicrobiana, resistência ao biofilme, não-citotoxicidade, porosidade, hidrofilicidade e boa resistência mecânica (Varadavenkatesan *et al*., 2021).

As biocerâmicas destacam-se como um grupo de materiais com excelente biocompatibilidade com o tecido ósseo humano e devem apresentar comportamento quimicamente estável, evitando a liberação de íons que possam desencadear processos inflamatórios, sendo, portanto, necessariamente atóxicas (Sharifianjazi *et al*., 2021).

Entre as biocerâmicas, a hidroxiapatita (HAp) tem recebido grande atenção na última década, por ser o principal componente da fase mineral dos ossos e dentes dos vertebrados (Wang *et al*., 2009). A HAp é um fosfato de cálcio hidratado, com fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ e razão molar cálcio/fósforo de 1,67. Devido à sua semelhança química e estrutural com os ossos humanos, a HAp possui características como baixo custo, alta capacidade de adsorção, biodegradabilidade, estabilidade fisiológica e reatividade química (Arokiasamy *et al*., 2022a). Além disso, apresenta propriedades como osteoindução e osteocondutividade (Nenem *et al*., 2022), bioatividade (Szcześ *et al*., 2017), afinidade com biopolímeros (Sadat-Shojai *et al*., 2013), e natureza não imunogênica e não corrosiva (Yelten-Yilmaz e Yilmaz, 2018; Pu`ad *et al*., 2020; Arokiasamy *et al*., 2022b).

Em virtude dessas propriedades, a HAp é amplamente utilizada em aplicações biomédicas, com destaque para a ortopedia, onde é empregada como material de revestimento para implantes metálicos (Pon-On *et al*., 2011; Batista *et al*., 2021; Arokiasamy *et al*., 2022b), odontologia (Kato *et al*., 2015; Zaokari *et al*., 2020), scaffolds (Lett *et al*., 2021; Salama, 2021) e como carregador de fármacos (Mondal *et al*., 2018; Gu *et al*., 2022). Ela desempenha um papel importante na regeneração de ossos e tecidos duros (Ingole *et al*., 2017).

Diversas rotas sintéticas para a obtenção da HAp são relatadas na literatura, entre as quais se destacam: co-precipitação (Banerjee *et al*., 2018), sol-gel (Kapoor *et al*., 2022), método hidrotérmico (Nosrati, Sarraf-Mamoory, Perez *et al*., 2021), micro-ondas (Pai, *et al*., 2020), sonoquímico (Kalbarczyk e Szcześ, 2020), pirólise (Nowicki *et al*., 2020) e reação de combustão (Dastoorian *et al*., 2022).

Entre esses métodos, a reação de combustão tem atraído crescente interesse, sendo alvo de estudos preliminares. No entanto, ainda não foram observados trabalhos que investiguem a produção de HAp em escala piloto ou industrial. A reação de combustão é uma técnica simples e de baixo custo, que combina nitratos metálicos com combustíveis para desencadear uma reação exotérmica, resultando na formação de materiais cerâmicos com alta pureza, cristalinidade e homogeneidade química (Costa, 2012;

Canillas *et al.*, 2017; Collin *et al.*, 2021). Além disso, esse método permite a produção de nanomateriais em grande escala (Jain *et al.*, 1981; Farias *et al.*, 2020; Dantas *et al.*, 2021).

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo a produção de HAp pelo método de reação de combustão em solução, em escala piloto de 50g por batelada. Busca-se comprovar a viabilidade econômica do processo para futura produção em larga escala, com foco em aplicações biomédicas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIOCERÂMICAS

A utilização de materiais cerâmicos no campo biomédico começou no século XVIII, com a aplicação de porcelana no tratamento de coroas dentárias. No século XIX, o gesso de Paris passou a ser usado em aplicações odontológicas. O uso da cerâmica na medicina aumentou significativamente no século XX, impulsionado pelos avanços nas tecnologias de processamento (Sartori, 2015).

As biocerâmicas são amplamente reconhecidas como uma classe versátil de cerâmicas, utilizadas em diversas aplicações biomédicas. Elas podem ser de origem sintética ou natural, e são projetadas especificamente para reparo e reconstrução de partes doentes ou danificadas dos sistemas biológicos, sem causar toxicidade aos tecidos circundantes (Daculsi e Biocomposites, 2016; Bahremandi-Toloue *et al.*, 2022).

Esses materiais podem ser classificados em três categorias, de acordo com sua resposta ao ambiente biológico: a) biocerâmicas quase bioinertes, b) biocerâmicas bioativas, e c) biocerâmicas reabsorvíveis. A composição química das biocerâmicas determina seu comportamento em contato com o ambiente biológico (fluido biológico, células e tecidos) e os resultados subsequentes (Kargozar, Montazerian, *et al.*, 2019).

As biocerâmicas bioinertes, como a alumina (Al_2O_3), a zircônia (ZrO_2) e o titânio (TiO_2), são estáveis no meio fisiológico e possuem propriedades físico-químicas compatíveis com os tecidos duros. Esses materiais são amplamente utilizados em implantes estruturais, como placas e parafusos ósseos. Vale destacar que nenhum material é completamente bioinerte, pois todos provocam algum tipo de reação após a implantação no corpo (Kargozar, Ramakrishna, *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2018).

As biocerâmicas bioativas, por sua vez, têm a capacidade de induzir respostas biológicas que auxiliam na regeneração e reparo dos tecidos. Elas são especialmente empregadas na engenharia de tecidos, em reparos ortopédicos, craniofaciais e odontológicos, com destaque para a hidroxiapatita e os fosfatos de cálcio (Bhushan *et al.*, 2015).

Já as biocerâmicas reabsorvíveis referem-se a materiais que se dissolvem gradualmente após a implantação, sendo substituídos por tecido ósseo. As principais cerâmicas dessa categoria incluem fosfatos de cálcio amorfos, sulfato de cálcio, hidroxiapatita e fosfatos α/β-tricálcico. Esses materiais são utilizados no tratamento de fraturas ósseas sem causar inflamação (Punj *et al.*, 2021a).

Os biomateriais cerâmicos se destacam por suas características como excelente biocompatibilidade, alta temperatura de fusão, resistência à corrosão, boas propriedades mecânicas, alta força de compressão, porosidade variável, baixa plasticidade e menor coeficiente de fricção em comparação com biomateriais metálicos. No entanto, as

biocerâmicas são frágeis, com baixa tenacidade à fratura, e apresentam módulo de elasticidade inferior ao do osso humano (Pu'ad *et al*., 2021; Punj *et al*., 2021b).

As propriedades físicas e químicas das biocerâmicas dependem das matérias-primas utilizadas, do método de processamento e das fases presentes no pó cerâmico (De Freitas Almeida *et al*., 2020). Para aplicações que requerem ligação com o tecido ósseo, as biocerâmicas surgem como uma alternativa aos implantes metálicos, devido à sua capacidade de mimetizar o tecido ósseo, como é o caso da alumina (Al_2O_3) e da zircônia (ZrO_2) recobertas com fosfatos de cálcio (CaPs) e biovidros (Ibrahim *et al.*, 2020).

Em todas as situações, os biomateriais precisam atender a requisitos específicos de biocompatibilidade, devendo apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos hospedeiros, de forma a estimular uma resposta biológica adequada. Entre esses materiais, as cerâmicas à base de fosfato de cálcio mostram-se bastante promissoras (Bouiahya *et al.*, 2019; Ibrahim *et al*., 2020).

Diversas áreas da biomedicina utilizam as biocerâmicas, incluindo odontologia, ortopedia, implantes, revestimentos, sensores médicos e carregadores de fármacos. Elas têm elevado potencial para reparo e regeneração de tecidos, especialmente por sua semelhança com a composição mineral óssea, excelente biocompatibilidade e osteointegração (Sinusaite *et al*., 2019; Punj *et al.*, 2021b).

2.2. FOSFATO DE CÁLCIO

Em meados da década de 1920, Albee e Morrison investigaram o efeito dos fosfatos de cálcio na regeneração óssea em coelhos, descobrindo que esses compostos apresentavam um potencial promissor para a formação de novo tecido ósseo. Esse estudo pioneiro abriu caminho para que outros pesquisadores explorassem mais a fundo esse campo emergente de conhecimento (Firdaus Hussin *et al*., 2022).

Em 1934, Haldeman e Moore conduziram experimentos com diferentes tipos de fosfatos — fosfato monocálcico, tricálcico, dicálcico e glicerofosfato de cálcio — para avaliar sua capacidade de promover a união do osso rádio em coelhos. Eles observaram que o fosfato tricálcico foi mais eficaz no processo de formação óssea, enquanto os outros compostos, tanto orgânicos quanto inorgânicos, não demonstraram efeitos positivos significativos.

Pouco depois, Huggins e colaboradores (1936) descobriram que o transplante de dentes decíduos para o músculo abdominal estimulava a formação de novo osso. Essa descoberta incentivou o avanço de novas pesquisas, incluindo o uso de gesso como substituto ósseo (Bahn, 1966), o desenvolvimento de transplantes e implantes ósseos (Holmstrand, 1957) e o estudo de materiais de enxerto ósseo (Ray *et al*., 1952).

O desenvolvimento de substitutos ósseos tem ganhado crescente relevância nas pesquisas de biomateriais, especialmente devido à maior expectativa de vida, ao aumento de acidentes e lesões, e aos avanços tecnológicos que oferecem melhores opções de tratamento para os pacientes (Tronco *et al*., 2022). Devido à escassez de doadores, ao alto custo e ao risco potencial de transmissão de doenças, as estratégias terapêuticas baseadas em enxertos ósseos como autoenxertos e aloenxertos — não são soluções sustentáveis a longo prazo. Nesse contexto, a produção de biomateriais para substituição óssea surge como uma alternativa mais segura e viável para a regeneração de tecido ósseo (Greenwald *et al.*, 2021; Iaquinta *et al.*, 2019; Hussin *et al.*, 2022).

Entre os biomateriais, os fosfatos de cálcio (CaP) destacam-se especialmente por sua semelhança química e cristalográfica com o osso humano. São atóxicos, biocompatíveis, e não são identificados como corpos estranhos pelo organismo, além de possuírem comportamento bioativo. Isso permite que eles se integrem ao tecido vivo por meio de processos semelhantes aos da remodelação natural dos ossos, resultando em uma ligação físico-química íntima entre o implante e o osso, chamada de osteointegração (Yelten-Yilmaz e Yilmaz, 2018; Pu'ad *et al*., 2020; Sharifianjazi *et al*., 2021a; Arokiasamy *et al*., 2022b).

Assim, os fosfatos de cálcio tornaram-se biomateriais indispensáveis em áreas biomédicas, como a engenharia de tecidos, a administração de medicamentos e, particularmente, a regeneração de tecidos duros, como ossos e dentes (Demir-Oğuz *et al.*, 2023). Além disso, são usados como minerais promissores em cosméticos, scaffolds e como transportadores de fármacos na indústria farmacêutica (Uetanabaro *et al.*, 2020).

O CaP é o mineral mais comumente encontrado nos tecidos dos vertebrados, composto por sais de ácido fosfórico ou ortofosfórico. Esses fosfatos podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons de cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}) sob condições alcalinas ou ácidas (Ferguson *et al*., 2017). A razão molar entre cálcio e fósforo (Ca/P), que varia entre 0,5 e 2,0, é frequentemente utilizada para classificar os diferentes tipos de fosfatos de cálcio. Compostos com maior razão molar Ca/P apresentam menor solubilidade em condições neutras e menor taxa de degradação (Tonsuaadu *et al*., 2012).

Tabela 1 - Tipos, fórmula química, relação Ca/P, estabilidade de pH e densidade das apatitas.

Fosfato de Cálcio	Fórmula química	Ca/P	Estabilidade do pH	Densidade g/cm³
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$	0,50	2	2,33
Fosfato de cálcio (DCP) - Monetita	$CaHPO_4$	1,0	-	-
Fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD) - Brushita	$CaHPO_{4.2}H_2O$	1,0	2 - 6,5	2,32
Fosfato octacálcico (OCP)	$Ca_8H_2(PO_4)_{6.5}H_2O$	1,33	5,5 - 7	2,61
Fosfato tricálcico (α e β-TCP)	α e β - $Ca_3(PO_4)$	1,5	-	2,86 3,08
Fosfatos de cálcio amorfos (ACP)	$Ca_xH_y(PO_4)$ z nH_2O, n = 3-4,5; 15-20% H_2O	1,2- 2,2	-	-
Hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA)	$Ca10\text{-}x(HPO_4)$ x $(PO_4)_6\text{-}x\ (OH)_2\text{-}x$ (0 <x <1)	1,5 - 1,67	6,5-9,5	-
Hidroxiapatita (HAp)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67	9,5-12	3,16
Fluorapatita (FAp)	$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$	1,67	7-12	3,20
Oxiapatita (OAp)	$Ca10(PO_4)_6O$	1,67	-	-
Fosfato de tetra cálcio - Hilgenstockita	$Ca_4(PO_4)_2O$	2,0	3,05	

Fonte: Punj *et al*., 2021.

A biodegradação de biocerâmicas é um processo complexo, influenciado por vários fatores, como a composição química, as propriedades físicas (área superficial, porosidade, densidade, volume), a estrutura cristalina e a estabilidade do pH do material. Além disso, durante a reabsorção, os contornos de grãos cerâmicos liberam micro ou nanopartículas que não só ajudam em reações biológicas, como também são promissoras em aplicações de terapia gênica e engenharia de tecidos ósseos, reforçando o potencial desses materiais em diversas frentes (Balasubramaniam *et al.*, 2017; Ferguson *et al.*, 2017; Punj *et al.*, 2021a). Esses fatores também influenciam a solubilidade e a taxa de degradação dos diferentes fosfatos de cálcio, que variam conforme o pH. Em geral, quanto mais ácido o meio, maior a solubilidade desses compostos. Em pH fisiológico, a degradação in vivo dos fosfatos de cálcio segue a ordem: MCPM > α-TCP > DCPD > DCP > OCP > β-TCP > HAp (Guastaldi e Aparecida, 2010). Esse comportamento é crucial para determinar a aplicabilidade de cada fase de fosfato de cálcio em diferentes contextos biomédicos.

Entre os fosfatos de cálcio sintéticos, o bifásico, composto principalmente por HAp e β-fosfato tricálcico (β-TCP), se destaca pela sua capacidade de promover a formação de scaffold ósseo com degradação controlada. No entanto, sua fragilidade intrínseca impede seu uso em aplicações que exigem suporte de carga. Para contornar essa limitação, ele pode ser combinado com polímeros orgânicos, criando materiais híbridos com características ajustáveis, como morfologia e estrutura cristalina (Salama, 2021). Isso permite uma maior flexibilidade no design de biomateriais para diferentes aplicações.

Dentre as biocerâmicas à base de fosfato de cálcio, a HAp e o β-TCP são amplamente utilizados em engenharia de tecidos e reparo ósseo devido à sua semelhança química com a fase inorgânica do osso, além de suas propriedades biocompatíveis e osteocondutoras (Sahoo *et al.*, 2020). Essas características tornam esses materiais essenciais para regeneração de tecidos duros, como ossos e dentes.

Ao explorar as diferentes fases dos fosfatos tricálcicos, observa-se que o α-TCP e o β-TCP têm comportamentos distintos. Embora o α-TCP se dissolva mais rapidamente, o β-TCP é preferido para aplicações clínicas, devido às suas propriedades osteoindutivas e osteocondutoras. Além disso, estudos in vivo mostram que o α-TCP é mais reabsorvível do que o β-TCP, enquanto ambos apresentam reabsorvibilidade superior à da hidroxiapatita (Shanmugam e Sahadevan, 2018; Punj *et al.*, 2021a). Essas variações no comportamento de reabsorção são fundamentais na escolha do material certo para cada tipo de aplicação clínica.

2.3. HIDROXIAPATITA (HAp)

A hidroxiapatita (HAp) é um fosfato de cálcio hidratado pertencente ao grupo mineral das apatitas, com fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, uma razão Ca/P de 1,67 e peso molecular de 502,31 g/mol. Ela é termodinamicamente estável em seu estado cristalino no fluido corporal (Iaquinta *et al.*, 2019). Principal componente dos ossos e dentes, a HAp compõe cerca de 70% do peso ósseo e 90% do esmalte dentário, possuindo uma composição química muito semelhante à do mineral ósseo. Isso permite que ela se integre ao osso sem causar toxicidade local ou sistêmica, inflamação ou resposta de corpo estranho (Sadat-Shojai *et al.*, 2013b).

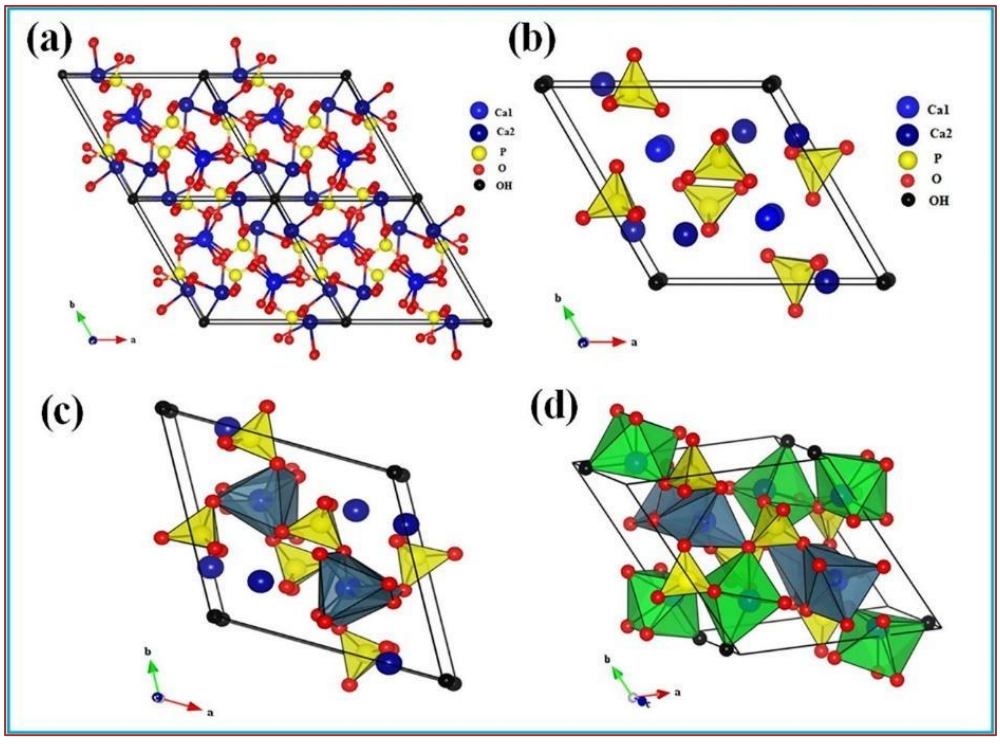
Sua fórmula geral é expressa como $Me_{10}(XO_4)_6Y_2$, onde "Me" pode ser substituído por diversos cátions, como os monovalentes (Na^+, K^+, Rb^+, etc.), bivalentes (Zn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, etc.), e até tetravalentes (U^{4+}, Th^{4+}). O grupo XO_4 é um tetraedro aniônico trivalente,

que também pode ser substituído por grupos tetravalentes (SiO_4^{4-}) ou bivalentes (CO_3^{2-}, SO_4^{2-}, HPO_4^{2-}). Já "Y" é um ânion monovalente que pode ser substituído por OH^-, F^-, Cl^-, entre outros (Li *et al*., 2022).

A estrutura cristalina da HAp apresenta-se principalmente em duas formas: monoclínica (grupo espacial $P2_1/b$) e hexagonal ($P6_3/m$), sendo a forma hexagonal a mais comum e biocompatível (Piccirillo e Castro, 2017). O cristal de HAp na forma hexagonal tem uma célula unitária triclínica, com parâmetros de rede: a = b = 9,423 Å, c = 6,875 Å e ângulo γ = 120º. Sua estrutura é composta por grupos tetraédricos PO_4 rodeados por íons Ca^{2+} e OH^-. Existem dois tipos de campos de cristal na HAp: os campos a e b, que são carregados positivamente e tendem a ligar moléculas negativamente carregadas, e os campos C, carregados negativamente, que atraem moléculas positivamente carregadas (Hartati *et al*., 2022).

A rede cristalina da HAp estequiométrica pode ser descrita como um arranjo compacto de grupos tetraédricos PO_4, onde os íons P^{5+} ocupam o centro dos tetraedros, cujos vértices são preenchidos por átomos de oxigênio. Cada tetraedro PO_4 compartilha uma coluna e define dois tipos de canais não conectados, como ilustrado na Figura 1 (Fihri *et al*., 2017). Essa estrutura peculiar é crucial para as propriedades bioativas da HAp, permitindo sua aplicação em diversas áreas da biomedicina, especialmente em implantes e regeneração óssea.

Figura 1 - a) Projeção da célula unitária do HAp no plano (001); (b) Projeção dos octaedros [Ca (I) O_6]; (c) Projeção octaédrica [Ca(I) O_6] e tetraédrica [PO_4]; e (d) Projeção do octaédrico [Ca (I) O_6] e [Ca (II) O_6], e tetraédrico [PO_4] na estrutura HAp.



Fonte: Fihri *et al.* 2017.

O primeiro canal da estrutura da HAp possui um diâmetro de 2,5 Å e é cercado por íons Ca^{2+}, conhecidos como Ca (I), que estão presentes em uma quantidade de quatro por célula unitária. Esses íons Ca (I) são coordenados com nove átomos de oxigênio dos tetraedros PO_4, formando um poliedro conforme ilustrado na Figura 1a. O segundo tipo de canal, que desempenha um papel crucial nas propriedades das apatitas, tem um diâmetro maior (variando de 3 a 4,5 Å) e abriga seis íons Ca^{2+}, referidos como Ca (II). Esses íons estão localizados nas dimensões z = 1/4 e z = 3/4 ao longo do eixo C da célula unitária, formando triângulos equiláteros alternados ao redor do eixo senário helicoidal. A coordenação desses íons é 7, sendo rodeados por seis átomos de oxigênio dos tetraedros $[XO_4]$ e um ânion OH^- na posição 3, como mostrado na Figura 1b (Fihri *et al*., 2017; Ji *et al*., 2023).

A existência de dois diferentes locais de cálcio na estrutura da HAp é de particular interesse porque permite o ajuste das suas propriedades por meio de modificações específicas nos sítios. Esses canais abrigam grupos OH^- ao longo do eixo C, equilibrando a carga positiva da matriz. Os íons OH^- estão dispostos em colunas perpendiculares à face da célula unitária, localizados no centro dos grandes canais tipo II. A posição dos átomos de oxigênio e hidrogênio do grupo hidroxila confere certa mobilidade a esses íons, permitindo sua circulação ao longo dos túneis na direção do eixo OZ (Figura 1c). Essa organização é detalhada na projeção que mostra a sequência dos octaedros $[Ca(1)O_6]$, $[Ca(2)O_6]$, e tetraedros $[PO_4]$ na estrutura da HAp (Figura 1d) (Fihri *et al*., 2017).

Além de sua complexa e ajustável estrutura cristalina, a HAp destaca-se como um biomaterial versátil devido a propriedades como baixo custo, alta capacidade de adsorção, biodegradabilidade, estabilidade, reatividade, bioatividade, biocompatibilidade e osteocondução (Ibrahim *et al*., 2020). Sua estrutura ainda permite a formação de soluções sólidas e a aceitação de diversos substituintes aniônicos e catiônicos, tornando-a altamente personalizável para aplicações específicas (Pai *et al*., 2020).

Essas propriedades notáveis, somadas à sua variabilidade de características, tornam a HAp sintética e suas versões revestidas com materiais orgânicos ou inorgânicos amplamente aplicáveis tanto no campo ambiental quanto no biomédico. Na medicina, por exemplo, a HAp é amplamente utilizada em reparação óssea (Du *et al*., 2021), como camada biocompatível para implantes cirúrgicos ortopédicos (Li *et al*., 2021), e em scaffolds (Surmeneva *et al.*, 2019). Na odontologia, ela é usada em tratamentos de esmalte dentário (Pepla *et al*., 2014) e em sistemas de liberação de proteínas e fármacos (Fu *et al*., 2013; Liu *et al*., 2021).

No contexto ambiental, a HAp encontra aplicação no tratamento de água e remoção de metais pesados, devido à sua alta área superficial, porosidade e capacidade de adsorção de moléculas orgânicas (Lin *et al.*, 2009; Watanabe *et al*., 2006). Além disso, ela é empregada na fabricação de células de combustível (Wei e Yates, 2012), lâmpadas fluorescentes (Wagner *et al*., 2013) e em processos de catálise heterogênea (Fihri *et al*., 2017).

O desempenho da HAp em diferentes aplicações depende de fatores como sua microestrutura, tamanho e distribuição de grãos, morfologia, porosidade e grau de cristalinidade (Pramanik *et al*., 2007). Tanto a HAp sintética quanto a natural são bioativas e biocompatíveis por natureza. No entanto, a HAp natural, extraída de fontes biológicas, contém oligoelementos como Na^+, Zn^{2+}, K^+ e CO_3^{2-}, imitando a apatita presente nos ossos humanos e acelerando a regeneração óssea, o que a torna especialmente eficiente no estímulo da atividade osteoblástica (Akram *et al*., 2014).

A HAp sintética e suas versões dopadas têm grande destaque no campo biomédico por sua alta atividade biológica e compatibilidade com tecidos humanos. Em aplicações como carregadores de fármacos, esses materiais são projetados para liberar medicamentos de forma sustentada e controlada, prolongando os efeitos terapêuticos nas células-alvo do hospedeiro. Além disso, a HAp pode se integrar facilmente ao osso natural sem causar toxicidade, respostas imunológicas adversas ou inflamações, sendo osteoindutora, osteocondutora e osteointegrativa, características fundamentais em implantes ortopédicos e odontológicos (Varadavenkatesan *et al*., 2021a).

2.4. MÉTODOS DE OBTENÇÃO

A produção de HAp pode ser realizada por diversas rotas sintéticas, que se classificam em métodos secos, úmidos e de alta temperatura. Cada um desses métodos resulta em diferenças de tamanho, morfologia e pode levar à produção de diferentes fases cristalinas de fosfato de cálcio, além da obtenção de HAp cristalina pura. Dessa forma, a escolha do método de síntese impacta diretamente as características de bioatividade, bem como as propriedades mecânicas e biológicas da HAp (Mohd Pu'ad *et al*., 2019).

Entre os métodos sintéticos, alguns pesquisadores destacam a síntese por via-seca, especialmente pela sua alta reprodutibilidade e baixo custo. Por outro lado, a via úmida, especialmente por precipitação em solução aquosa, chama a atenção pela simplicidade, baixo custo, boa reprodutibilidade, além de permitir a obtenção de um biomaterial homogêneo, reativo e com composição estequiométrica bem definida, facilitando o controle das condições de síntese (Mondal *et al.,* 2023).

A literatura científica menciona diversos métodos para a fabricação da HAp. Entre os principais, tem-se:

I. Métodos via úmida: incluem a co-precipitação (Mohd Pu'ad *et al.*, 2019), o método hidrotérmico (Nosrati, Sarraf-Mamoory, Canillas Perez, *et al*., 2021), o método sol-gel (Chen *et al.*, 2020) e o sonoquímico (Pai *et al*., 2020).

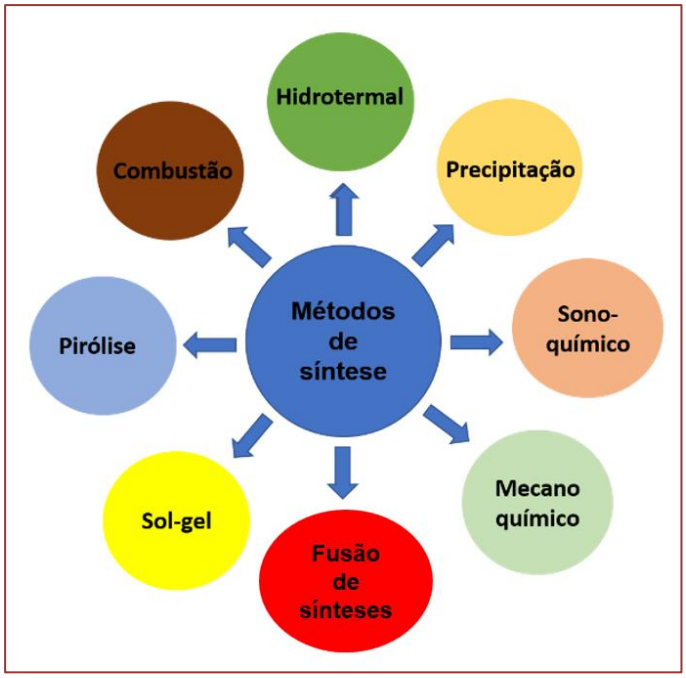
II. Métodos secos: destacam-se o método em estado sólido (Pu'ad *et al*., 2020) e os métodos mecanoquímicos (Bulina *et al*., 2020).

III. Processos de alta temperatura: incluem a combustão (Batista *et al.*, 2020) e a pirólise (Sadat-Shojai *et al*., 2013a).

IV. Fontes naturais: referem-se ao uso de substitutos de cálcio para a síntese de HAp, incluindo a síntese verde de HAp (Nayar e Guha, 2009).

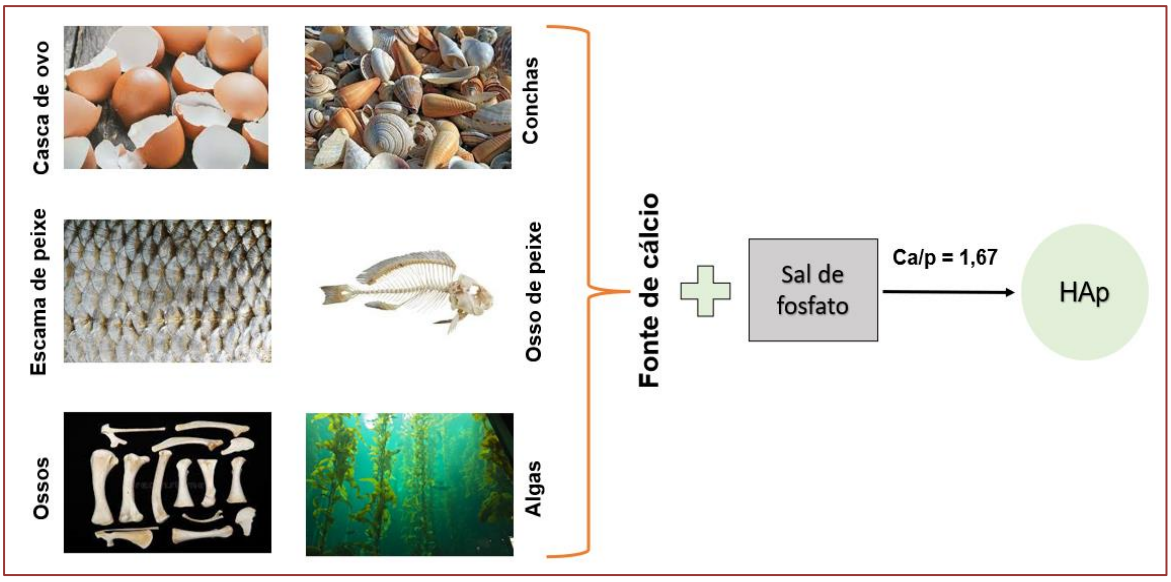
Em geral, a HAp pode ser sintetizada através de diferentes técnicas, dependendo da aplicação desejada. A Figura 2 ilustra os métodos convencionais de síntese da HAp. Além disso, vários parâmetros influenciam o tamanho e a morfologia da HAp obtida, tais como: método de síntese, temperatura, tempo de agitação, pH, materiais de partida e solventes utilizados, entre outros.

Figura 2 - Métodos para sintetizar a hidroxiapatita.



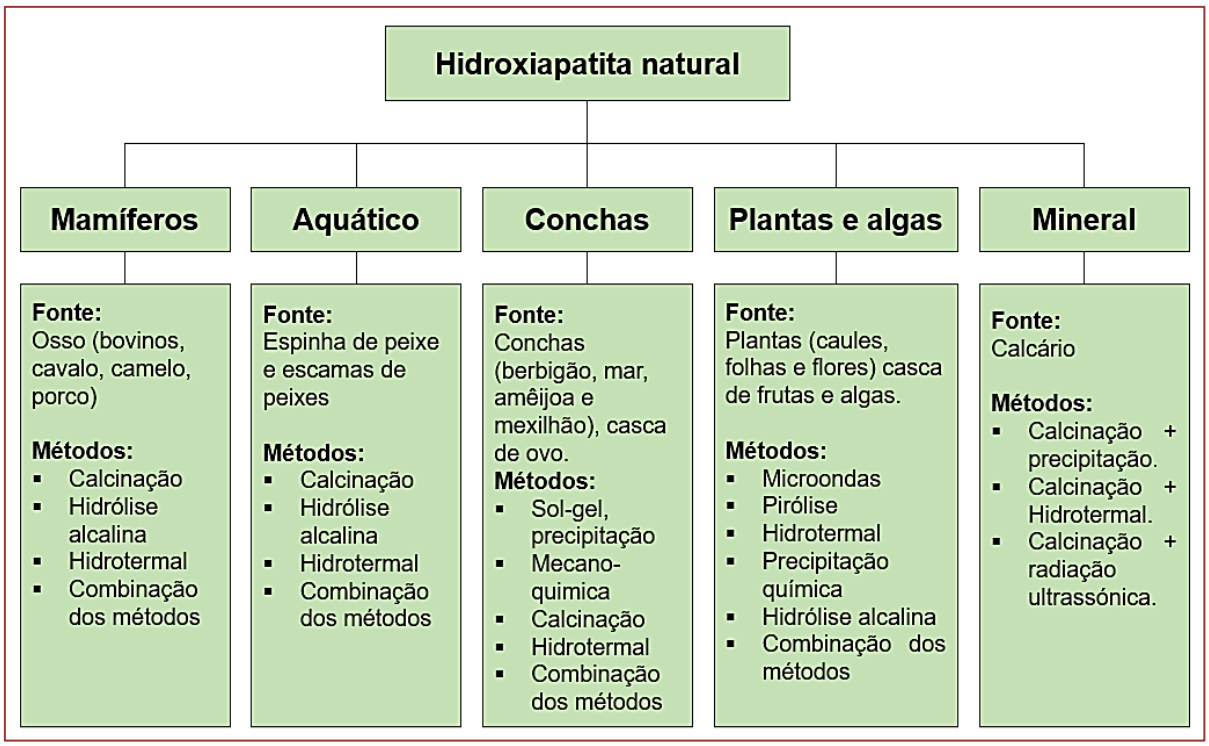
A HAp pode ser obtida também através de vários recursos residuais que são usados como substituto de cálcio para a síntese de HAp natural, tais como: casca de ovo (Noviyanti *et al*., 2021), conchas (Wu *et al*., 2011), ossos de peixe (Nam *et al*., 2019), ossos de animais (Ramesh *et al*., 2018) e algas (Walsh *et al.*, 2008). A Figura 3 apresenta o resumo dos recursos residuais que podem ser usados para síntese natural da HAp e a Figura 4 apresenta um resumo dos processos de síntese para obtenção da HAp natural.

Figura 3 - Recursos usados para síntese da HAp.



Fonte: Pai, 2020.

Figura 4 - resumo das fontes e métodos de síntese da HAp natural.



Fonte: Pu'ad, 2019.

A síntese verde envolve a utilização de extrato vegetal para a síntese de HAp, reduzindo o custo e melhorando as propriedades das nanopartículas. A Figura 5 esboça o processo geral de síntese verde de HAp.

Figura 5 - Processo geral de síntese verde da HAp.

Fonte: Pai, 2020.

A utilização de HAp extraída de fontes naturais é vista como um processo ecologicamente correto, sustentável e econômico para a produção desse biomaterial, devido à abundância dessas matérias-primas. No entanto, recentemente, o interesse pela síntese de HAp via reação de combustão tem crescido significativamente. Isso se deve à simplicidade desse método, ao baixo consumo de energia, à ampla variedade de combustíveis disponíveis e à alta pureza dos produtos obtidos em uma única etapa, fatores que tornam o processo atrativo tanto para aplicações biomédicas quanto ambientais (Leite, 2017).

A síntese por combustão, em particular, utiliza uma solução de reagentes que atuam como oxidantes, como os nitratos, combinados com combustíveis orgânicos, como sacarose, uréia, carbohidrazida e anidrido maleíco, que funcionam como agentes redutores. O processo consiste no aquecimento da solução até a fervura, promovendo a autoignição e resultando em uma reação rápida e autossustentável. Essa reação gera um pó submicrônico, cristalino e desaglomerado, com propriedades adequadas para uma variedade de aplicações, tanto na área biomédica quanto no tratamento ambiental (Batista *et al*., 2020).

2.6. SÍNTESE PELO MÉTODO DE REAÇÃO DE COMBUSTÃO

A síntese por combustão (CS) é uma tecnologia eficiente para a fabricação de materiais avançados. Consiste em aquecer uma solução aquosa saturada contendo sais metálicos e um combustível orgânico até atingir a ignição, momento em que ocorre uma reação de combustão rápida, resultando em um pó de óxido seco, geralmente cristalino e composto por partículas finas. Comparada aos métodos convencionais de síntese em estado sólido, a síntese por combustão apresenta vantagens como a eliminação do uso de forno, baixo consumo de energia, tempos curtos de processamento, simplicidade do processo, alta produtividade e baixo custo. Além disso, oferece produtos com alta pureza, homogeneidade e morfologia controlada (Patil *et al*., 2002; Patil *et al*., 2022).

As condições específicas da síntese por combustão, como as altas temperaturas e as rápidas taxas de aquecimento e resfriamento, permitem o controle da microestrutura dos materiais e a síntese de novos compostos. Essa técnica é amplamente utilizada na produção de uma variedade de materiais inorgânicos, como metais, cerâmicas (incluindo alumina, zircônia e hidroxiapatita), e compósitos em diferentes formas, como pós, revestimentos e granéis. O método foi inicialmente descoberto por Merzhanov e colaboradores (1972) durante estudos sobre a chama sólida e baseia-se em conceitos termoquímicos desenvolvidos no campo de propelentes e explosivos químicos.

A reação de combustão envolve uma mistura de nitratos metálicos (ou outros compostos como sulfatos e carbonatos) com um combustível (como uréia, glicina, carbohidrazida, ou hidrazina maléica). Essa mistura desencadeia uma reação exotérmica autopropagada, rápida e não explosiva, que pode gerar grandes quantidades de gases e, em alguns casos, a presença de chama. O processo de combustão pode ser subdividido em diferentes categorias, como metalotermia (MT), síntese de alta temperatura autopropagada (SHS), síntese mecanicamente ativada de alta temperatura (MASHS), e reação de autopropagação mecanicamente estimulada (MSR) (Tan *et al*., 2021).

De acordo com a natureza dos reagentes e a exotermicidade do processo (temperatura adiabática, Tad), a síntese por combustão pode ser classificada em diferentes tipos, como síntese de alta temperatura autopropagada (SHS), síntese de

combustão de baixa temperatura (LCS), síntese de combustão de solução (SCS), combustão sol-gel, combustão de emulsão e combustão de volume (explosão térmica) (Patil *et al.*, 2002). A combustão pode ocorrer com ou sem a presença de chama. Quando não há chama, o processo é denominado combustão latente ou combustão lenta. Esse tipo de combustão resulta de interações contínuas entre os processos de transferência de calor e massa e a cinética química, o que pode levar a diferentes resultados: temperaturas crescentes que promovem condições superadiabáticas, propagação autossustentável com temperaturas constantes, ou propagação decrescente até a extinção do processo (Torero *et al*., 2020).

A combustão lenta se diferencia da combustão com chama principalmente na troca de calor, que reduz as perdas por radiação, condução e convecção, permitindo que as reações químicas ocorram em temperaturas mais baixas e em regiões que não coincidem necessariamente com a área de temperatura máxima. Já na combustão com chama, as reações ocorrem simultaneamente na região de temperatura mais alta, o que afeta tanto a transferência de calor e massa quanto os produtos resultantes da combustão.

Entre os parâmetros fundamentais que influenciam o sucesso da síntese por reação de combustão, destacam-se a forma de aquecimento, o tipo de combustível utilizado e a relação combustível-oxidante. A eficácia desse método decorre da mistura íntima dos reagentes e do uso de um combustível que, ao reagir exotermicamente com o oxidante, gera produtos de alta pureza e homogeneidade. As características do pó final, como o tamanho dos cristalitos, área superficial e extensão da aglomeração, são influenciadas pela entalpia e pela temperatura gerada durante a combustão, que dependem diretamente da natureza e proporção do combustível e oxidante utilizados (Da Silva *et al.*, 2012).

A síntese por combustão envolve dois componentes essenciais: o oxidante e o combustível. Normalmente, agentes oxidantes como nitratos, carbonatos e sulfatos são combinados com combustíveis como uréia, glicina, hidrazina maléica e amido solúvel. Além desses, também podem ser utilizados ácido cítrico, dextrose, glicina e ácido oxálico como combustíveis, ampliando as possibilidades de controle do processo e das propriedades do material resultante (Fihri *et al*., 2017).

2.6.1. TIPOS DE COMBUSTÍVEIS

O papel do combustível é crucial na síntese por combustão, pois influencia diretamente as características e propriedades do produto final. Combustíveis com baixa temperatura de decomposição, que liberam grandes quantidades de gases (como CO_2 e H_2O), são especialmente importantes. Esses gases promovem o aquecimento local suficiente para a conclusão da reação de combustão, favorecendo a formação de materiais com alta porosidade, boa cristalinidade e baixa aglomeração de partículas. Dessa forma, a escolha correta do combustível afeta não apenas a eficiência da reação, mas também a qualidade do material resultante (Parauha *et al.*, 2021).

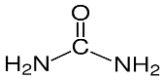
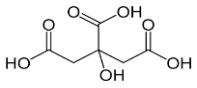
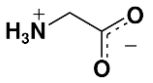
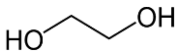
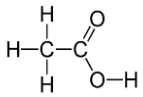
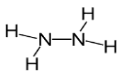
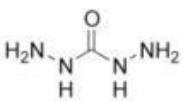
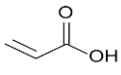
A seleção do combustível adequado deve ser um dos parâmetros principais no planejamento da síntese, pois é ele que altera o mecanismo e a cinética da reação, possibilitando o controle sobre as propriedades do produto final. Combustíveis com diferentes características podem levar a materiais com microestruturas e propriedades específicas, dependendo das necessidades da aplicação. A Tabela 2 apresenta uma lista de

alguns combustíveis comumente utilizados na síntese por combustão, suas respectivas fórmulas químicas, temperaturas de decomposição e estruturas.

Para escolher o combustível ideal, é importante verificar se ele atende a alguns critérios fundamentais. O combustível deve ser solúvel em água e ter uma baixa temperatura de ignição (<500°C). Além disso, é necessário que seja compatível com nitratos metálicos, facilitando a mistura homogênea dos cátions em solução. Isso ajuda a evitar explosões e garante que a reação de combustão ocorra de maneira controlada. Outro critério é que o combustível forme grandes quantidades de gases de baixo peso molecular, os quais ajudam a evitar resíduos indesejados, garantindo que o único produto sólido remanescente seja o óxido de interesse (Patil *et al.*, 2002; Khort *et al.*, 2018; Parauha *et al.*, 2021).

Dessa forma, a escolha do combustível tem um impacto direto não apenas nas condições de síntese, mas também nas propriedades finais do material, como porosidade, cristalinidade e morfologia, o que torna esse parâmetro essencial no controle da qualidade e aplicabilidade dos produtos obtidos por síntese de combustão.

Tabela 2 - Combustíveis geralmente usados na síntese de combustão.

Combustível	Fórmula	Reduzindo a valência	Temperatura de decomposição	Estrutura
Ureia	CH_4N_2O	+6	135ºC	
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	+18	175 ºC	
Glicina	$C_2H_5NO_2$	+9	262 ºC	
Etilenoglicol	$C_2H_6O_2$	+10	163 ºC	
Ácido acético	CH_3COOH	+8	400 ºC	
Hidrazina	N_2H_4	+4	250 ºC	
Carbohidrazina	CH_6N_4O	+8	153 ºC	
Ácido acrílico	C_3H_4O	+12	440 ºC	

Fonte: Parauha *et al.*, 2021.

A escolha do combustível ideal na síntese por combustão está diretamente relacionada ao controle das propriedades do material final, como discutido anteriormente. Um dos principais parâmetros que afetam esse controle é a razão da mistura entre o combustível e o oxidante, representada pela taxa de equivalência (ϕe), que é fundamental para ajustar as características do pó obtido na combustão. Além de determinar a quantidade de combustível necessária, a taxa de equivalência define a estequiometria da reação de combustão, influenciando diretamente a temperatura alcançada, a formação de fases cristalinas, porosidade e outras propriedades desejadas no material.

A fórmula de Jain *et al*. (1981), define a taxa de equivalência como:

$$\emptyset e = \frac{\Sigma(Coeficiente\ dos\ elementos\ oxidantes\ .valência)}{(-1)\cdot\Sigma(Coeficientes\ dos\ elementos\ oxidantes\ .valência)} \qquad (1)$$

Onde para valores de ϕ < 1 a mistura é rica em combustível, ϕ = 1 para sistemas onde a mistura corresponde a uma relação estequiométrica com agente redutor e oxidante em equilíbrio e ϕ > 1 a mistura é deficiente em combustível (Jain *et al.*, 1981).

Estudos de Deganello e Tyagi (2018) mostram como a relação combustível-oxidante afeta diretamente o comportamento da combustão e as características dos pós resultantes. Essas reações podem ser classificadas em várias categorias com base na quantidade de combustível:

1. Reação extremamente deficiente em combustível: Sem chama, com formação de muitos gases, produzindo pós com baixa estabilidade térmica.
2. Combustão deficiente em combustível: Combustão lenta que gera pós altamente porosos e levemente aglomerados, exigindo aquecimento externo para a conclusão da reação.
3. Combustão estequiométrica: Reação rápida, violenta e auto-sustentada, com alta temperatura (até 1800°C) e formação de aglomerados duros devido à sinterização parcial.
4. Reação com excesso de combustível: Reação controlada por segurança, mas que pode produzir produtos amorfos com alto teor de carbono, necessitando de calcinação para purificação.

A quantidade de combustível também influencia diretamente a temperatura de combustão. Quando a mistura é pobre em combustível, a temperatura resultante é baixa, o que pode comprometer a qualidade do material final. Por outro lado, o excesso de combustível pode resultar na formação de carbono indesejado nos produtos. Portanto, o ajuste cuidadoso dessa razão é essencial para garantir a cristalinidade e as propriedades físicas adequadas dos materiais obtidos, como a HAp (Li *et al*., 2015).

Portanto, o controle sobre a razão combustível-oxidante (ϕ) é um dos parâmetros mais importantes para otimizar o processo de síntese por combustão, permitindo ajustar a microestrutura e as propriedades dos materiais resultantes de acordo com as necessidades específicas de suas aplicações biomédicas ou ambientais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos – LabSMaC, da Unidade Acadêmica e Engenharia de Materiais – UFCG. Foi dividida em síntese do material, caracterizações e estudo de sua reprodutibilidade.

3.1. MATERIAIS

Para a realização do trabalho, foram utilizados os seguintes materiais apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Componentes usados para síntese de reação de combustão da HAp.

Composto	Fórmula Química	Massa molar (g/mol)	Pureza
Fosfato de amônio dibásico	$(NH_4)_2HPO_4$	132,06	P.A.
Nitrato de Cálcio tetra hidratado	$Ca\ (NO_3)_2.4H_2O$	236,15	P.A.
Hidróxido de amônio	NH_4OH	35,04	28%
Ureia	CH_4N_2O	60,02	P.A.

3.2. METODOLOGIA

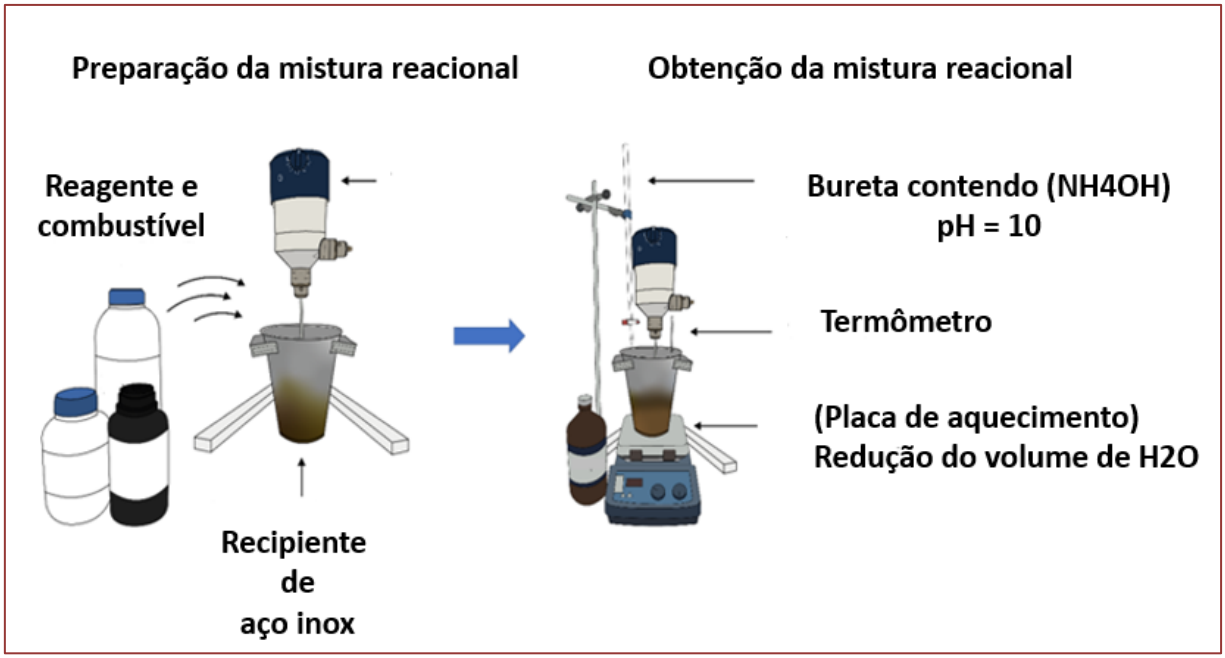
3.2.1. SÍNTESES DA HAP

A síntese da HAp seguiu um procedimento padrão de combustão, com a preparação da mistura reacional ocorrendo de maneira semelhante em todas as amostras. Nesse processo, os precursores oxidantes, como nitrato e fosfato, e o combustível redutor, neste caso a uréia, foram pesados e dissolvidos em quantidades específicas de água destilada. Foram utilizadas duas proporções distintas de solvente e reagentes: uma com 100 mL de água destilada (visando a obtenção de 20g de pó) e outra com 200 mL (visando a obtenção de 50g de pó), ambas à temperatura ambiente.

A mistura foi preparada em um recipiente cônico de aço inoxidável com volume máximo de 1 litro (R08), sendo agitada mecanicamente por um agitador. Para garantir que a reação de combustão ocorresse de forma controlada e eficiente, o pH da solução foi ajustado para 10 pela adição de hidróxido de amônio (NH_4OH) gotejado lentamente (velocidade de 2 mL/min) com o auxílio de uma bureta.

Após o ajuste do pH, o sistema foi aquecido em uma placa de aquecimento até alcançar uma temperatura entre 95 e 115°C, permitindo a evaporação parcial da água. Durante essa etapa, a mistura foi mantida sob constante agitação até adquirir uma consistência pastosa, momento em que o volume da solução foi significativamente reduzido. Esse procedimento assegura que a combustão ocorra de maneira eficiente e homogênea, promovendo a formação de partículas de HAp de acordo com os parâmetros esperados, como ilustrado no fluxograma apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Fluxograma da preparação e obtenção da mistura reacional.



O processo descrito reflete a importância do controle preciso de variáveis como pH, temperatura e agitação para garantir a síntese adequada de HAp, com propriedades físicas e químicas ideais para suas aplicações biomédicas.

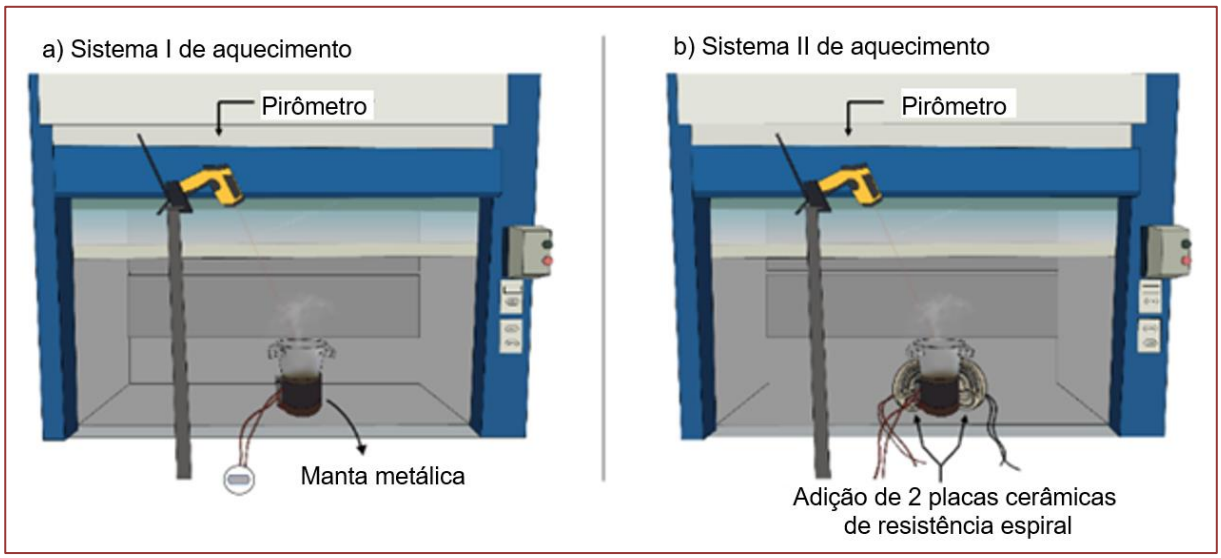
A Tabela 3 apresenta valores de tempo de dissolução dos reagentes ($t_{dissolução}$), tempo de redução de umidade ($t_{umidade}$) e tempo total de agitação ($t_{total\ agitação}$).

Tabela 3 - Tempos utilizado no preparo das misturas reacionais das sínteses da HAp.

Amostras	HAp1 (20 g)	HAp2 (50 g)
$t_{dissolução}$ (min)	40	70
$t_{umidade}$ (min)	35	40
$t_{total\ agitação}$ (min)	75	110

Após obtenção da mistura reacional pastosa das sínteses HAp1, a mesma foi encaminhada para a planta piloto, composta por sistema de exaustão de capacidade industrial e o sistema reator formado pelo recipiente cônico de aço inox que é acoplado a uma manta metálica (de resistência em torno e abaixo, na base) para fornecer o aquecimento (SI) da reação (Figura 7a) em que o aquecimento foi realizado até a estabilização da temperatura máxima da reação. Com a finalidade de aumentar a temperatura da reação (superiores a 500ºC), após obtenção da mistura reacional pastosa das sínteses HAp2), as mesmas foram encaminhadas para o sistema reator da planta piloto, ao qual um outro sistema de aquecimento foi inserido (SII), aumentando 2 placas cerâmicas de resistência espiral na lateral da manta metálica (Figura 7b).

Figura 7 - Síntese de combustão na planta piloto (a) Sistema de aquecimento I e (b) Sistema de aquecimento II.



A medição da temperatura de reação foi efetuada com auxílio de um pirômetro infravermelho. Todas as amostras foram maceradas com auxílio de um almofariz e pestilo e peneiradas em malha 325 (45 µm) para em seguida serem encaminhadas para as caracterizações desejadas.

3.2.2. REAÇÕES QUÍMICAS

A provável reação química na reação de combustão com o nitrato de cálcio tetra-hidratado, o fosfato de amônio dibásico e o combustível uréia para obtenção da HAp, foram obtidas por balanceamento (Webqc, 2018) considerando a composição da solução de reacional precursora, foram utilizadas as valências dos elementos reativos dos agentes oxidantes (nitrato de cálcio e o fosfato de amônio dibásico) e do agente redutor (combustível, uréia): C = +4; H= +1; N = 0; O = -2; Ca = +2; P = +5. Logo, levando em consideração os agentes precursores, e o combustível utilizado na formação da hidroxiapatita, a reação global deve ocorrer de acordo a equação 2:

$$10[Ca\,(NO_3)_2.4H_2O]_{(aq)} + 6[(NH_4)_2.\,HPO_4]_{(aq)} + 22[CO(NH_2)_2]_{(aq)} + 17O_{2(g)} \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2(s)} + 22CO_{2(g)} + 38N_{2(g)} + 110H_2O_{(g)} \quad \text{Eq. 2}$$

3.3. CARACTERIZAÇÕES

Para o presente estudo foram utilizadas as técnicas de caracterização: difração de raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise textural por adsorção de nitrogênio (BET).

3.3.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A técnica de difração de raio-X foi empregada para realizar a identificação de fases cristalinas; refinamento de cela unitária, análise de fases; determinação e refinamento de

estruturas cristalinas; cálculo e determinação de tamanho de cristalito, microestrutura e orientação preferencial. O equipamento utilizado para caracterização foi o difratômetro de raios X da Bruker, modelo D2 Phaser. Com varredura realizada na região de $10 \leq 2\theta \leq 80°$, empregando velocidade de 0,016°/min e uma radiação CuKα (λ = 1,5418 Å) gerada aplicando-se voltagem e corrente de 40 kV e 30 mA, respectivamente. Para a análise qualitativa das fases cristalinas foi usado o software EVA.

3.3.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Os aspectos morfológicos das amostras dos pós de hidroxiapatita foram analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) no equipamento VEGA3, TESCAN, operando a 30 kV usando as seguintes magnificações: 100x, 500x e 2000x. A análise foi realizada no Laboratório de Engenharia Mecânica/Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica-LAMEA/CCT.

3.3.3. ANÁLISE TEXTURAL (AT)

A determinação da área superficial das amostras foi realizada pelo método de adsorção/dessorção de nitrogênio desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller (BET) visando determinar a área superficial específica dos produtos obtidos da reação de combustão. A partir de isotermas de adsorção de gases sobre as amostras é possível obter as características de suas texturas. Foi utilizado um equipamento modelo NOVA 3200.

Esta técnica também foi usada para determinar o tamanho médio de aglomerados de partículas (diâmetro esférico equivalente) por meio da Equação 3:

$$D_{BET} = \frac{6}{S_{BET} \cdot \rho} \qquad (3)$$

Em que, D_{BET} é o diâmetro médio (nm) da partícula, calculado a partir dos dados de BET, considerando que ela seja esférica e sem rugosidade. S_{BET} é a área superficial determinada pelo método BET. (m^2/g) e ρ é densidade teórica (g/cm^3) da fase desejada tomada a partir da ficha cristalográfica do padrão de DRX.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA REAÇÃO DE COMBUSTÃO EM ESCALA PILOTO

Todas as reações seguiram o mesmo padrão de comportamento reacional, conforme ilustrado na Figura 8. Observando as imagens, é possível perceber que, mesmo após a solução alcançar a fase pastosa (Figura 8a), ainda ocorre uma redução adicional da umidade, resultando em uma substância de coloração branca (Figura 8b).

Figura 8 - Imagens da reação de combustão: (a e b) solução pastosa com evaporação umidade, (c) liberação de gases nitrogenados, (d) finalização da reação, (e) produto obtido floculado, (f, g e h) beneficiamento das amostras.

Esse comportamento é típico da fase final da síntese por combustão, onde a solução reacional, inicialmente líquida e depois pastosa, passa por um processo de evaporação contínua da água residual. Ao atingir a fase sólida, o material apresenta a coloração branca, indicando a formação da HAp. Esse ponto da reação é crucial, pois garante que a combustão completa ocorra com a remoção de resíduos de água e a formação dos produtos desejados em suas fases finais.

No entanto, com o decorrer do tempo ocorre também o aumento da temperatura, provocando a liberação intensa de gases nitrogenados, advindos dos precursores de coloração alaranjada (Figura 8c). Na Figura 8d observa-se o cessar da liberação de gases e simultaneamente a estabilização da temperatura aferida pelo pirômetro, considerada a finalização da reação, uma vez que em nenhuma das mesmas, foi observada a formação de chama.

Em seguida o produto obtido pela síntese foi retirado de dentro do recipiente, um aglomerado branco (Figura 8e), que foi beneficiamento (macerado e peneirado), como reportado nas (Figura 8f e 8g), respectivamente, obtendo um pó visivelmente macio, leve e fino (Figura 8h) utilizado nas caracterizações.

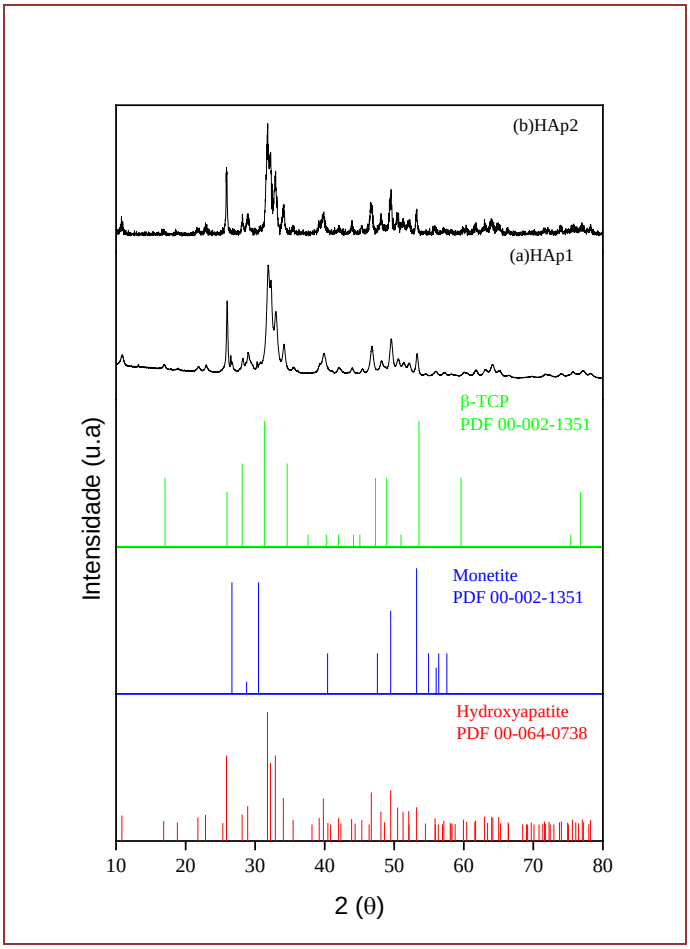
4.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

Na Figura 9 estão ilustrados os difratogramas de raio-X dos pós de HAp obtidos pelo método de síntese de reação de combustão em larga escala (20 e 50 g).

Analisando os difratogramas ilustrados na Figura 9, referente ao sistema I e II de aquecimento, foram identificadas a formação de 3 fases cristalinas para todas as amostras. Como fase majoritária identificada tem-se a HAp - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, com razão Ca/P=1,67, de estrutura hexagonal, grupo espacial (P63/m), confirmada pela presença

dos principais ângulos de difração (2θ), referentes ao respectivo ao índice de Miller em 31,7º (1 2 1), os picos secundários em 25,8º (0 0 2), 32,9º (0 3 0) e o pico em 32,1º (1 1 2), identificados de acordo com a carta padrão (PDF 00-064-0738).

Figura 9 - Difratogramas de raios-X das HAps: (a) HAp1 - SI, (b) HAp2 - SII e as suas respectivas cartas PDF.



Como fases secundárias identificadas nos difratogramas das amostras tem-se: o fosfato tricálcico (β-TCP) - $Ca_3(PO_4)_2$ com razão Ca/P = 1,5 de estrutura romboédrica, do grupo espacial R3c, com pico principal em 2θ = 31,4º e em 2θ = 53,5º, (PDF 00-002-0786) e o fosfato de dicálcio anidro ou monetita (DCPA) - $CaHPO_4$ com razão Ca/P = 1,0, pertencente ao grupo espacial P-1 com pico principal em 2θ = 53,2º de acordo com a ficha padrão (PDF 00-002-1351).

Nesse sentido a coexistência de fases secundárias associadas a HAp está relacionada à sua estabilidade térmica, que é influenciada pela presença do íon carbonato, dado que, a entrada de carbonato na estrutura da HAp se deve às condições de síntese, que nesta pesquisa foi realizada em sistema aberto.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores do tamanho de cristalito e da cristalinidade das amostras obtidas nas reações de combustão.

Tabela 4 - Valores de tamanho de cristalito e cristalinidade total das amostras de HAp obtidas por diferentes sistemas de aquecimento.

Condições reacionais	HAp1-SI (121)	HAp2-SII (121)
Tamanho de cristalito (nm)	12,9	12,8
Cristalinidade (%)	71,7	71,2

Pode-se observar que todas as amostras de HAp obtidas em larga escala pela síntese de combustão, apresentaram cristalinidade e consequentemente o tamanho de cristalito, com valores próximos entre si. A amostra HAp2-SII apresentou comportamento similar a amostra HAp1-SI, o que pode estar relacionada ao fato de ter sido sintetizada buscando um rendimento mássico de 50g, e, portanto, utilizou maior quantidade de reagentes, acarretando numa maior dissipação de energia pelo aumento da liberação de gases e a reduzindo assim a temperatura máxima, mesmo utilizando o sistema II de aquecimento.

4.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para a análise da morfologia e tamanho de partículas das HAp sintetizadas pelo método de combustão, deve-se levar em consideração os parâmetros das condições reacionais aplicados durante a síntese, tais como: o tempo, a temperatura máxima alcançada durante a combustão, a natureza do combustível, pois são fatores que afetam diretamente as propriedades e as características do pó sintetizado. Estão ilustradas nas Figuras 10 e 11 as microscopias eletrônicas de varredura (MEV) com aumento de 1000x e 5000x, das amostras HAp1 e HAp2, respectivamente.

Figura 10 - MEV da amostra HAp1-SI: (a) aumento de 1000x e 5000x.

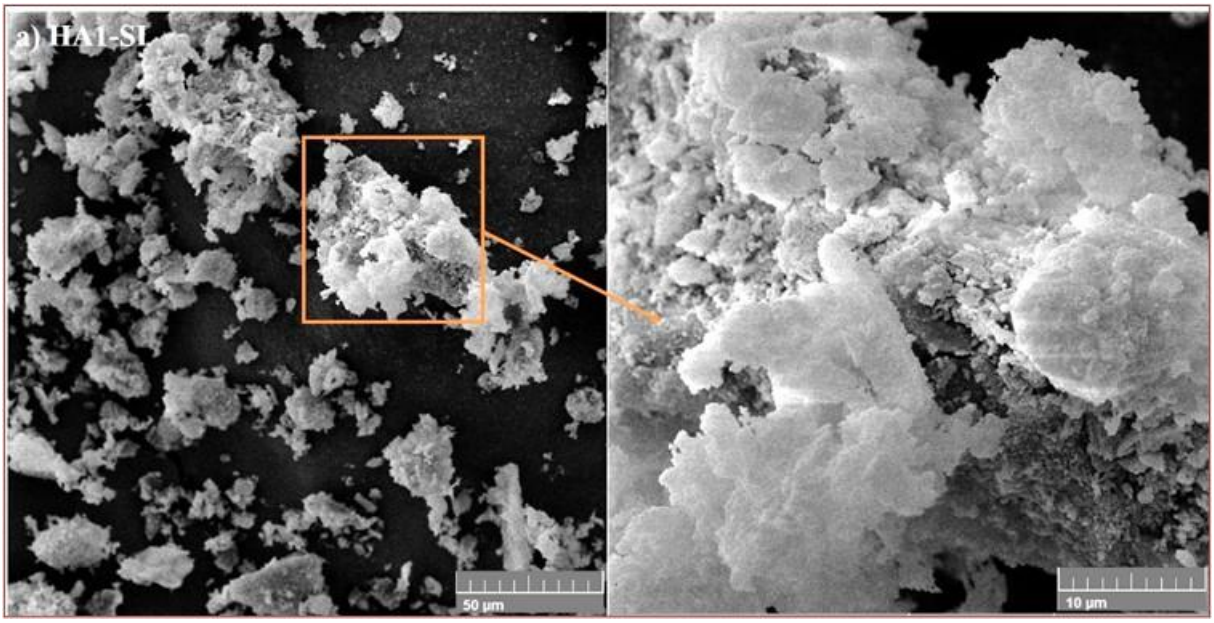
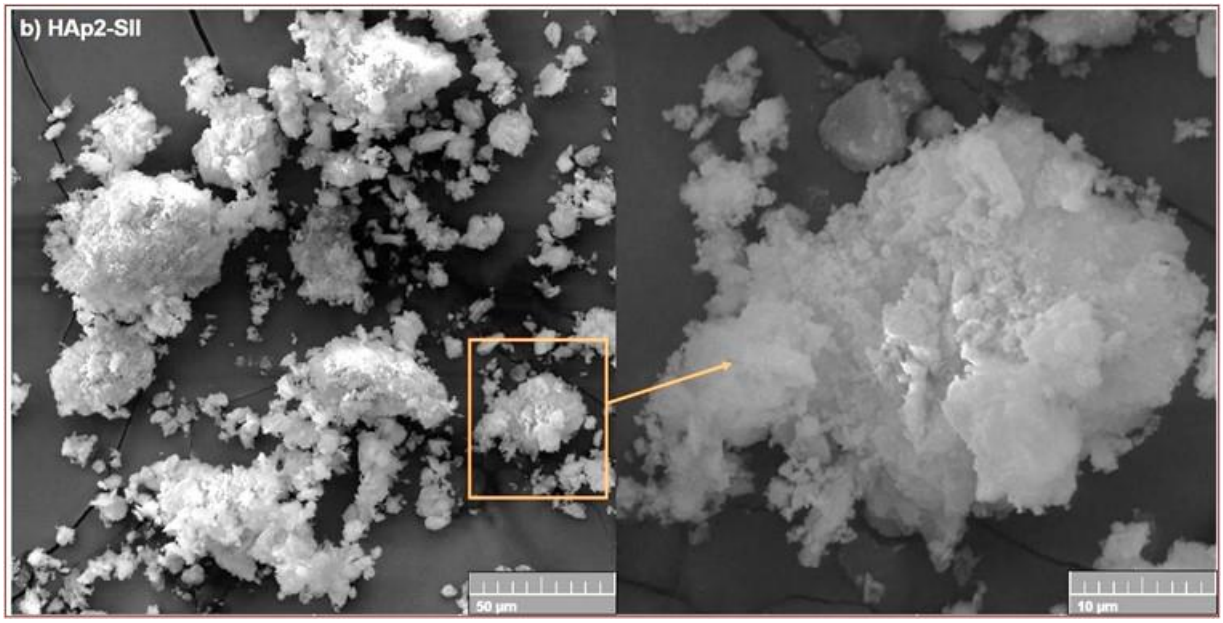


Figura 11 - MEV da amostra HAp2-SII: (b) aumento de 1000x e 5000x.



As microscopias das amostras de HAp apresentaram similaridade entre todas, não havendo mudanças significativas nos aspectos morfológicos das partículas. Estas revelaram características de agregados de partículas com distribuição de tamanho heterogêneas na faixa micrométrica superior a 50 µm, com aglomerados em forma de flocos de aspecto frágil (tamanho inferiores a 10 µm) dispersos na superfície, não sendo possível distinguir as fases HAp, β-TCP e monetita, que compõem as amostras.

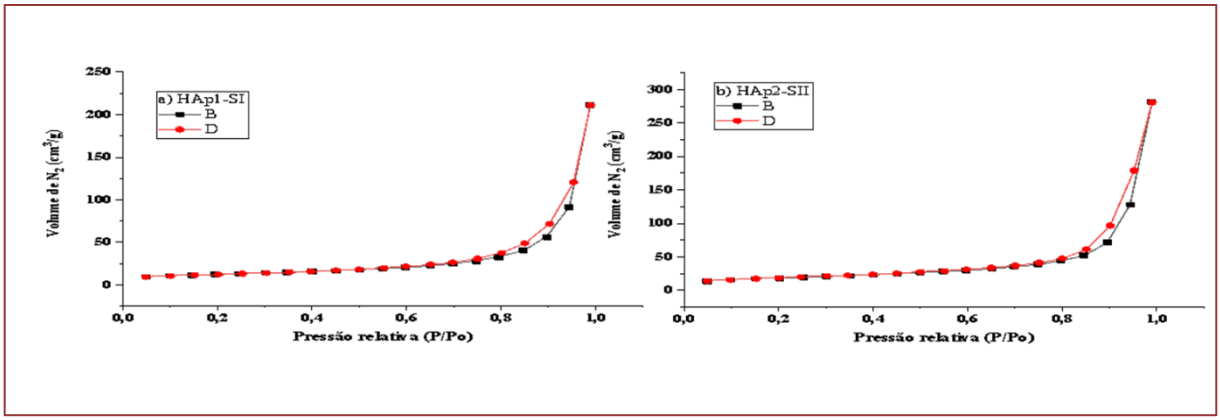
As características morfológicas das partículas obtidas são justificadas pelo método de síntese de combustão, o qual é descrito pela capacidade de obtenção de partículas primárias nanométricas. No entanto, estas tendem a aglomerar formando partículas micrométricas de agregados porosos de vários tamanhos durante a combustão, devido as altas temperaturas que favorecem a forte ligação das partículas por coalescência (Ghosh *et al.*, 2011; Ramakrishnan *et al.*, 2013; Kavitha *et al.*, 2014) . Sendo assim, a morfologia e os tamanhos de partículas da HAp sintetizada pelo método de combustão estão diretamente relacionadas aos parâmetros reacionais aplicados durante a síntese, tais como: a temperatura máxima alcançada durante a combustão, a natureza do combustível e relação oxidante (Batista *et al.*, 2020).

4.4. ANÁLISE TEXTURAL (AT)

Para obtenção dos valores da área superficial em partículas sólidas de uma ampla faixa de materiais porosos tem sido usado o método desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller (BET). A técnica utiliza dados obtidos mediante a capacidade de adsorção e dessorção de gás nitrogênio sob a superfície de um material, sendo assim, analisado sua estrutura porosa, volume, tamanho dos poros e volume de microporos.

Na Figura 12, estão ilustradas as isotermas de adsorção/dessorção de N_2 como resultado da caracterização textural das amostras sintetizadas por reação de combustão a uma temperatura de 467°C até 600°C.

Figura 12 - Isotermas de adsorção/dessorção de N2 das amostras: (a) HAp1-SI e (b) HAp2-SII.



Conforme a classificação da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) as isotermas de adsorção - dessorção de N_2 dos pós das HAps, apresentadas na Figura 12, podem ser definidas como curva de isoterma do tipo IV característica de adsorventes mesoporosos (materiais porosos com 2,0 e 50,0 nm), com um loop de histerese do tipo H3 caracterizada por dois ramos assintóticos relativamente verticais p/po = 1 mostrando que as HAps, possuem poros em forma de fenda (Alothman, 2012; Jiang *et al.,* 2020).

Na Tabela 5, estão apresentados os valores de área superficial específica (S_{BET}), tamanho de partícula (D_{BET}), volume do poro (V_P), diâmetro de poro (d_P), referente as amostras: HAp1-SI e HAp2-SII.

Tabela 5 - Valores de área superficial específica (S_{BET}), tamanho de partícula (D_{BET}), volume de poro (Vp) e diâmetro de poro (dp) das amostras.

Amostras	S_{BET} (m^2/g)	D_{BET} (nm)	V_P (cm^3/g)	d_P (nm)
HAp1-SI	42,4	44,2	0,328	12,5
HAp2-SII	63,1	29,7	0,431	17,8

Os resultados obtidos na Tabela 5, revelam que entre as amostras, a HAp2-SII possui maior valor de área superficial específica (S_{BET} = 63,1 m^2/g) e consequentemente menor tamanho de partículas (D_{BET} = 29,7 nm). Os resultados dos valores de área de superfície específica das amostras de HAp estão de acordo com os reportados com os estudos de Kim e colaboradores (2005b), que abordaram a síntese biomimética de metal-hidroxiapatita (HAp e Au-HAp, Ag-HAp, Au-Ag-HAp), com a hidroxiapatita pura obtida pelo método de precipitação química.

Embora a amostra HAp2-SII tenha sido obtida em uma temperatura reacional menor e similar a outra síntese, apresentou menor tempo de reação de combustão, visto que foi obtido 50g de produto, e, portanto, o equivalente a 2,5 vezes de massa da HAp1, o que pode ter favorecido o menor tamanho de partícula. Isso é justificável pela

versatilidade da reação de combustão, uma vez que os menores tempos reacionais associados a altas temperaturas são fatores característicos e determinantes da reação de combustão, que favorecem a obtenção de materiais cristalinos e a velocidade proporciona a nucleação e crescimento das partículas com tamanhos nanométricos (Lopera *et al.,* 2022; Mollaei *et al.,* 2022). Assim, os resultados promoveram a obtenção de HAp em escala piloto pelo método de síntese de combustão com características que indicam alta eficiência para aplicações na área de biomateriais.

É importante destacar que os valores de tamanhos de partículas obtidos das amostras de HAp a partir da análise textural indiquem características nanométricas, estando de acordo com o reportado na literatura (Aguilar *et al.,* 2021).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através das análises de difratometria de raios X, foi possível confirmar a formação da fase desejada de hidroxiapatita, acompanhada das fases monetita e β-TCP. A mudança no sistema de aquecimento e nas condições de síntese mostrou-se significativa para a obtenção da fase HAp, destacando a necessidade de um controle mais rigoroso sobre o tempo e a temperatura do processo.

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram a presença de agregados de partículas com distribuição de tamanhos heterogêneos na faixa micrométrica, superiores a 50 µm. Além disso, foram observados aglomerados em forma de flocos frágeis com tamanhos inferiores a 10 µm, dispersos na superfície. No entanto, não foi possível distinguir visualmente as diferentes fases que compõem as amostras.

Portanto, o método de síntese por combustão mostrou-se eficaz para a produção de hidroxiapatita em larga escala, destacando-se como uma alternativa viável e promissora para produção industrial voltada para o setor biomédico.

REFERÊNCIAS

[1] AKRAM, M.; AHMED, R.; SHAKIR, I.; IBRAHIM, W. A. W.; HUSSAIN, R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. **Journal of Material Science,** v. 49, n. 4, p. 1461-1475, 2014.

[2] ALBEE, F. H. Studies in bone growth: triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. **Journal Annals of Surgery**, v. 71, n. 1, p. 32, 1920.

[3] ALOTHMAN, Z. A. A review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials,** v. 5, n. 12, p. 2874-2902, 2012.

[4] AROKIASAMY, P.; ABDULLAH, M. M. A. B.; RAHIM, S. Z. A.; LUHAR, S.; SANDU, A. V.; JAMIL, N. H.; NABIAŁEK, M.**,** Synthesis methods of hydroxyapatite from natural sources: A review. **Ceramics International,** v. 48, p.14959-14979, 2022.

[5] BAHN, S. L. Plaster: a bone substitute. **Oral Medicine, Oral Pathology**. v. 21, n. 5, p. 672-681, 1966.

[6] BAHREMANDI-TOLOUE, E.; MOHAMMADALIZADEH, Z.; MUKHERJEE, S.; KARBASI, S. Incorporation of inorganic bioceramics into electrospun scaffolds for tissue engineering applications: A review. **Ceramics International,** v. 48, n. 7, p. 8803-8837, 2022.

[7] BALASUBRAMANIAN, S.; GURUMURTHY, B.; BALASUBRAMANIAN, A. Biomedical applications of ceramic nanomaterials: a review. **International Journal Pharmaceutical Sciences and Research,** v. 8, n. 12, p. 4950-9, 2017.

[8] BANERJEE, S.; BAGCHI, B.; BHANDARY, S.; KOOL, A.; HOQUE, N. A.; THAKUR, P.; DAS, S. A facile vacuum assisted synthesis of nanoparticle impregnated hydroxyapatite composites having excellent antimicrobial properties and biocompatibility. **Ceramics International,** v. 44, n. 1, p. 1066-1077, 2018.

[9] BATISTA, H. A.; SILVA, F. N.; LISBOA, H. M.; COSTA, A. C. F. Modeling and optimization of combustion synthesis for hydroxyapatite production. **Ceramics International,** v. 46, n. 8, p. 11638-11646, 2020.

[10] BHUSHAN, M.; TYAGI, S.; NIGAM, M.; CHOUDHARY, A.; KHURANA, N.; DWIVEDI, V. Bioactive materials: A short review. **Journal of Orofacial Research,** p. 138-141, 2015.

[11] BISWAL, T.; BADJENA, S. K.; PRADHAN, D. Sustainable biomaterials and their applications: A short review. **Materials Today: Proceedings,** v. 30, p. 274-282, 2020.

[12] BOUIAHYA, K.; ES-SAIDI, I.; EL BEKKALI, C.; LAGHZIZIL, A.; ROBERT, D.; NUNZI, J. M.; SAOIABI, A. Synthesis and properties of alumina-hydroxyapatite composites from natural phosphate for phenol removal from water. **Colloid and Interface Science,** v. 31, p. 100188, 2019.

[13] BULINA, N. V.; CHAIKINA, M. V.; PROSANOV, I. Y.; DUDINA, D. V. Strontium and silicate co-substituted hydroxyapatite: Mechanochemical synthesis and structural characterization. **Materials Science and Engineering: B,** v. 262, p. 114719, 2020.

[14] CANILLAS, M.; RIVERO, R.; GARCÍA-CARRODEGUAS, R.; BARBA, F.; RODRÍGUEZ, M. A. Processing of hydroxyapatite obtained by combustion synthesis. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio,** v. 56, n. 5, p. 237-242, 2017.

[15] CHEN, H.; WANG, R.; QIAN, L.; LIU, H.; WANG, J.; ZHU, M. Surface modification of urchin-like serried hydroxyapatite with sol-gel method and its application in dental composites. **Composites Part B: Engineering,** v. 182, p. 107621, 2020a.

[16] COLLIN, M. S.; SHARMA, A.; BHATTACHARYA, A.; SASIKUMAR, S. Synthesis of strontium substituted hydroxyapatite by solution combustion route. **Journal of the Indian Chemical Society,** v. 98, n. 11, p. 100191, 2021.

[17] COSTA, A.; KIMINAMI, R. J. R. P. I., Nº BR. Dispositivo para produção de nanomateriais cerâmicos em larga escala por reação de combustão e processo contínuo de produção dos nanomateriais. v. 10, p. 002181-3, 2012.

[18] DA SILVA, M.; COUTINHO, J.; COSTA, A.; KIMINAMI, R. Síntese por reação de combustão e caracterização de nanoferritas Ni-Zn: Estudo dos combustíveis anilina, ácido cítrico e sua mistura. **Anais do 56° Congresso Brasileiro de Cerâmica**, 2012.

[19] DACULSI, G. History of Development and Use of the Bioceramics and Biocomposites. **Handbook of bioceramics and bocomposites,** p. 1-1386, 2016.

[20] DANTAS, J.; LEAL, E.; MAPOSSA, A. B.; PONTES, J. R.; FREITAS, N. L.; FERNANDES, P. C.; COSTA, A. C. F. Biodiesel production on bench scale from different sources of waste oils by using NiZn magnetic heterogeneous nanocatalyst. **International Journal of Energy Research,** v. 45, n. 7, p. 10924-10945, 2021.

[21] DASTOORIAN, F.; SALEM, A.; SALEM, S. Role of amine-based fuel combination in conventional and microwave-assisted smoldering combustion for production of mesoporous hydroxyapatite with super adsorptive characteristics for separation of disperse dye. **Microporous and Mesoporous Materials,** v. 330, p. 111576, 2022.

[22] DE FREITAS, A. T.; DELATORRE, A. B.; MOTHÉ, G. P. B.; DE JESUS AGUIAR, C. Caracterização do resíduo de mármore calcinado para utilização como fonte alternativa de carbonato de Cálcio. **Brazilian Journal Of Development,** v. 6, n. 9, p. 66962-66969, 2020.

[23] DEGANELLO, F.; TYAGI, A. K. Solution combustion synthesis, energy and environment: Best parameters for better materials. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 64, n. 2, p. 23–61, 2018.

[24] DEMIR-OĞUZ, Ö.; BOCCACCINI, A. R.; LOCA, D. Injectable bone cements: What benefits the combination of calcium phosphates and bioactive glasses could bring? **Bioactive Materials,** v. 19, p. 217-236, 2023.

[25] DU, M.; CHEN, J.; LIU, K.; XING, H.; SONG, C. Recent advances in biomedical engineering of nano-hydroxyapatite including dentistry, cancer treatment and bone repair. **Composites Part B: Engineering,** v. 215, p. 108790, 2021.

[26] FARIAS, A. F.; DE ARAUJO, D. T.; DA SILVA, A. L.; LEAL, E.; PACHECO, J. G.; SILVA, M. R.; KIMINAMI, R. H.; COSTA, A. C. D. M. Evaluation of the catalytic effect of ZnO as a secondary phase in the Ni0. 5Zn0. 5Fe2O4 system and of the stirring mechanism on biodiesel production reaction. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 13, n. 6, p. 5788-5799, 2020.

[27] FERGUSON, J.; DIEFENBECK, M.; MCNALLY, M. Ceramic biocomposites as biodegradable antibiotic carriers in the treatment of bone infections. **Journal of Bone and Joint Infection,** v. 2, n. 1, p. 38-51, 2017.

[28] FIHRI, A.; LEN, C.; VARMA, R. S.; SOLHY, A. Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. **Coordination Chemistry Reviews,** v. 347, p. 48-76, 2017.

[29] FIRDAUS HUSSIN, M. S.; ABDULLAH, H. Z.; IDRIS, M. I.; ABDUL WAHAP, M. A. Extraction of natural hydroxyapatite for biomedical applications—A review. **Heliyon,** v. 8, n. 8, p. e10356, 2022.

[30] FU, H.; RAHAMAN, M. N.; BROWN, R. F.; DAY, D. E. Evaluation of BSA protein release from hollow hydroxyapatite microspheres into PEG hydrogel. **Materials Science and Engineering: C,** v. 33, n. 4, p. 2245-2250, 2013.

[31] GHOSH, S. K.; ROY, S. K.; KUNDU, B.; DATTA, S.; BASU, D. Synthesis of nano-sized hydroxyapatite powders through solution combustion route under different reaction conditions. **Materials Science and Engineering: B,** v. 176, n. 1, p. 14-21, 2011.

[32] GREENWALD, A. S.; BODEN, S. D.; GOLDBERG, V. M.; KHAN, Y.; LAURENCIN, C. T.; ROSIER, R. N.MD. Bone-graft substitutes: facts, fictions, and applications. **The Journal of Bone & Joint Surgery,** v. 83, n. 2, p. S98-103, 2001.

[33] GU, M.; LI, W.; JIANG, L.; LI, X. Recent Progress of Rare Earth Doped Hydroxyapatite Nanoparticles: Luminescence Properties, Synthesis and Biomedical Applications. **Acta Biomaterialia**, 2022.

[34] GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova,** v. 33, p. 1352-1358, 2010.

[35] HALDEMAN, K. O.; MOORE, J. M. Influence of a local excess of calcium and phosphorus on the healing of fractures: An experimental study. **Archives of Surgery**, v. 29, n. 3, p. 385–396, 1934.

[36] HARTATI, Y. W.; IRKHAM, I.; ZULQAIDAH, S.; SYAFIRA, R. S.; KURNIA, I.; NOVIYANTI, A. R.; TOPKAYA, S. N. Recent advances in hydroxyapatite-based electrochemical biosensors: Applications and future perspectives. **Sensing and Bio-Sensing Research,** v. 38, p. 100542, 2022.

[37] HOLMSTRAND, K. Biophysical investigations of bone transplants and bone implants: an experimental study. **Acta Orthopaedica Scandinavica,** v. 28, n. sup26, p. 1-66, 1957.

[38] HUGGINS, C.; MCCARROLL, H.; BLOCKSOM, B. Experiments on the theory of osteogenesis: The influence of local calcium deposits on ossification; the osteogenic stimulus of epithelium. **Archives of Surgery,** v. 32, n. 6, p. 915-931, 1936.

[39] IAQUINTA, M. R.; MAZZONI, E.; MANFRINI, M.; D'AGOSTINO, A.; TREVISIOL, L.; NOCINI, R.; TROMBELLI, L.; BARBANTI-BRODANO, G.; MARTINI, F.; TOGNON, M. Innovative biomaterials for bone regrowth. **International Journal of molecular science,** v. 20, n. 3, p. 618, 2019.

[40] IBRAHIM, M.; LABAKI, M.; GIRAUDON, J.-M.; LAMONIER, J.-F. Hydroxyapatite, a multifunctional material for air, water and soil pollution control: A review. **Journal of Hazardous Materials,** v. 383, p. 121139, 2020.

[41] INGOLE, V. H.; HANY HUSSEIN, K.; KASHALE, A. A.; GHULE, K.; VUHERER, T.; KOKOL, V.; CHANG, J. Y.; LING, Y. C.; VINCHURKAR, A.; DHAKAL, H. N. GHULE, A.V. Ultrasound-assisted green economic synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using eggshell biowaste and study of mechanical and biological properties for orthopedic applications. **Journal of Biomedical Materials Res Part A,** v. 105, n. 11, p. 2935-2947, 2017.

[42] JAIN, S.; ADIGA, K.; VERNEKER, V. P. A new approach to thermochemical calculations of condensed fuel-oxidizer mixtures.**Combustion and Flame,** v. 40, p. 71-79, 1981.

[43] JI, C.; HE, B.; YUN, S.; BAI, X.; LIN, B. The fracture mechanical behavior simulation of calcium-deficient hydroxyapatite crystals by molecular dynamics and first-principles calculation. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials,** v. 137, p. 105526, 2023.

[44] JIANG, J.; LONG, Y.; HU, X.; HU, J.; ZHU, M.; ZHOU, S. A facile microwave-assisted synthesis of mesoporous hydroxyapatite as an efficient adsorbent for Pb2+ adsorption. **Journal of Solid State Chemistry,** v. 289, p. 121491, 2020.

[45] KALBARCZYK, M.; SZCZEŚ, A. Microwave assistant synthesis of calcium phosphate minerals using hen's eggshells as a calcium source. **Physicochemical Problems of Mineral Processing,** v. 56, 2020.

[46] KAPOOR, S.; BATRA, U.; KOHLI, S.; KUMAR, R. Synthesis and characterization of zinc and fluorine co-substituted hydroxyapatite for bone and dental applications. **Materials Today: Proceedings**, 2022.

[47] KARGOZAR, S.; RAMAKRISHNA, S.; MOZAFARI, M. Chemistry of biomaterials: future prospects. **Current Opinion in Biomedical Engineering,** v. 10, p. 181-190, 2019.

[48] KATO, E.; YAMADA, M.; SAKURAI, K. J. Retrospective clinical outcome of nanopolymorphic crystalline hydroxyapatite-coated and anodic oxidized titanium implants for 10 years. **Journal of Prosthodontic Res,** v. 59, n. 1, p. 62-70, 2015.

[49] KAVITHA, M.; SUBRAMANIAN, R.; NARAYANAN, R.; UDHAYABANU, V. Solution combustion synthesis and characterization of strontium substituted hydroxyapatite nanocrystals. **Powder Technology,** v. 253, p. 129-137, 2014.

[50] KIM, D.-H.; LEE, S.-H.; KIM, K.-N.; KIM, K.-M.; SHIM, I.-B.; LEE, Y.-K. Cytotoxicity of ferrite particles by MTT and agar diffusion methods for hyperthermic application. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials,** v. 293, n. 1, p. 287-292, 2005.

[51] KHORT, A.; PODBOLOTOV, K.; SERRANO-GARCÍA, R.; GUN'KO, Y. One-step solution combustion synthesis of cobalt nanopowder in air atmosphere: the fuel effect. **Inorganic Chemistry,** v. 57, n. 3, p. 1464-1473, 2018.

[52] KUMAR, G. S.; RAJENDRAN, S.; KARTHI, S.; GOVINDAN, R.; GIRIJA, E. K.; KARUNAKARAN, G.; KUZNETSOV, D. Green synthesis and antibacterial activity of hydroxyapatite nanorods for orthopedic applications. **Biomaterials,** v. 7, n. 2, p. 183-188, 2017.

[53] KUMAR, P.; DEHIYA, B. S.; SINDHU, A. Bioceramics for hard tissue engineering applications: A review. **International Journal of Applied Engineering Research,** v. 13, n. 5, p. 2744-2752, 2018.

[54] KUMAR, S.; ROY, D. N.; DEY, V. comprehensive review on techniques to create the anti-microbial surface of biomaterials to intervene in biofouling. **Colloid and Interface Science Communications,** v. 43, p. 100464, 2021.

[55] LETT, J. A.; SAGADEVAN, S.; FATIMAH, I.; HOQUE, M. E.; LOKANATHAN, Y.; LÉONARD, E.; ALSHAHATEET, S. F.; SCHIRHAGL, R.; OH, W. C. Recent advances in natural polymer-based hydroxyapatite scaffolds: Properties and applications. **European Polymer Journal,** v. 148, p. 110360, 2021.

[56] LI, F.-T.; RAN, J.; JARONIEC, M.; QIAO, S. Z. Solution combustion synthesis of metal oxide nanomaterials for energy storage and conversion. **Nanoscale,** v. 7, n. 42, p. 17590-17610, 2015.

[57] LI, S.; LI, Y.; SHEN, W.; BAI, Y.; KONG, L. Hydroxyapatite-based catalysis in environmental decontamination. **Journal of Cleaner Production,** v. 380, p. 134961, 2022.

[58] LI, X.; WEI, L.; LI, J.; SHAO, J.; YI, B.; ZHANG, C.; LIU, H.; MA, B.; GE, S. Multifunctional SDF-1-loaded hydroxyapatite/polylactic acid membranes promote cell recruitment, immunomodulation, angiogenesis, and osteogenesis for biomimetic bone regeneration. **Applied Materials Today,** v. 22, p. 100942, 2021.

[59] LIN, K.; PAN, J.; CHEN, Y.; CHENG, R.; XU, X.J. Study the adsorption of phenol from aqueous solution on hydroxyapatite nanopowders. **Journal of Hazardous Materials,** v. 161, n. 1, p. 231-240, 2009.

[60] LIU, Y.; RAINA, D. B.; SEBASTIAN, S.; NAGESH, H.; ISAKSSON, H.; ENGELLAU, J.; LIDGREN, L.; TÄGIL, M. Sustained and controlled delivery of doxorubicin from an in-situ setting biphasic hydroxyapatite carrier for local treatment of a highly proliferative human osteosarcoma. **Acta Biomaterialia,** v. 131, p. 555-571, 2021.

[61] LOPERA, A.; CHAVARRIAGA, E. A.; BEZZON, V. D. N.; ZUTTA, M.; GÓMEZ, A.; PUERTA, J.; ROBLEDO, S. M.; OSPINA, V. E.; PAUCAR, C.; GARCIA, C. Synthesis of high crystallinity biphasic calcium

phosphates/gold nanoparticles composites by solution combustion method with antimicrobial response. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio,** v. 61, n. 5, p. 487-497, 2022.

[62] LU, N.; HE, G.; YANG, Z.; YANG, X.; LI, Y.; LI, J. Fabrication and reaction mechanism of MgO-stabilized ZrO2 powders by combustion synthesis. **Ceramics International,** v. 48, n. 5, p. 7261-7264, 2022.

[63] MERZHANOV, A.; BOROVINSKAYA, I. SERIYA KHIMIYA. Self-spreading high-temperature synthesis of refractory inorganic compounds. **Journal Article,** v. 204, n. 2, p. 366-369, 1972.

[64] MOHD PU'AD, N. A. S.; ABDUL HAQ, R. H.; MOHD NOH, H.; ABDULLAH, H. Z.; IDRIS, M. I.; LEE, T. C. Synthesis method of hydroxyapatite: A review. **Materials Today: Proceedings,** v. 29, p. 233-239, 2020.

[65] MOHD PU'AD, N. A. S.; KOSHY, P.; ABDULLAH, H. Z.; IDRIS, M. I.; LEE, T. C. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. **Heliyon,** v. 5, n. 5, p. e01588, 2019.

[66] MOLLAEI, Z.; KERMANI, F.; MOLLAZADEH, S.; KARGOZAR, S.; VAHDATI KHAKHI, J. Crystallization behavior and density functional theory study of solution combustion synthesized silicon doped calcium phosphates. **Ceramics International,** v. 48, n. 10, p. 14349-14359, 2022.

[67] MONDAL, S.; PARK, S.; CHOI, J.; VU, T. T. H.; DOAN, V. H. M.; VO, T. T.; LEE, B.; OH, J. Hydroxyapatite: a journey from biomaterials to advanced functional materials. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 103013, 2023.

[68] MONDAL, S.; DOROZHKIN, S. V.; PAL, U. Recent progress on fabrication and drug delivery applications of nanostructured hydroxyapatite. **Wires Nanomedicine and Nanobiotechnology,** v. 10, n. 4, p. e1504, 2018.

[69] NADERI, H.; MATIN, M. M.; BAHRAMI, A. R. Critical issues in tissue engineering: biomaterials, cell sources, angiogenesis, and drug delivery systems. **Journal biomaterials applications,** v. 26, n. 4, p. 383-417, 2011.

[70] NAM, P. V.; HOA, N. V.; TRUNG, T. S. Properties of hydroxyapatites prepared from different fish bones: A comparative study. **Ceramics International,** v. 45, n. 16, p. 20141-20147, 2019.

[71] NAYAR, S.; GUHA, A. Waste utilization for the controlled synthesis of nanosized hydroxyapatite. **Materials Science and Engineering: C,** v. 29, n. 4, p. 1326-1329, 2009.

[72] NOSRATI, H.; SARRAF-MAMOORY, R.; CANILLAS PEREZ, M.; LE, D. Q. S.; ZOLFAGHARI EMAMEH, R.; BÜNGER, C. E. Characteristics of hydroxyapatite-reduced graphene oxide composite powders synthesized via hydrothermal method in the absence and presence of diethylene glycol. **Open Ceramics,** v. 5, p. 100067, 2021.

[73] NOVIYANTI, A. R.; RAHAYU, I.; FAUZIA, R. P.; RISDIANA. The effect of Mg concentration to mechanical strength of hydroxyapatite derived from eggshell. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 14, n. 4, p. 103032, 2021.

[74] NOWICKI, D. A.; SKAKLE, J. M.; GIBSON, I. R. Faster synthesis of A-type carbonated hydroxyapatite powders prepared by high-temperature reaction. **Advanced Powder Technology 31,** v. 31, n. 8, p. 3318-3327, 2020.

[75] PAI, S.; M KINI, S.; SELVARAJ, R.; PUGAZHENDHI, A. A review on the synthesis of hydroxyapatite, its composites and adsorptive removal of pollutants from wastewater. **Journal of Water Process Engineering,** v. 38, p. 101574, 2020.

[76] PARAUHA, Y. R.; SAHU, V.; DHOBLE, S. J. Prospective of combustion method for preparation of nanomaterials: A challenge. **Materials Science and Engineering: B,** v. 267, p. 115054, 2021.

[77] PATIL, K. C.; ARUNA, S. T.; MIMANI, T. Combustion synthesis: an update. **Current Opinion in Solid State and Materials Science,** v. 6, n. 6, p. 507-512, 2002.

[78] PEPLA, E.; BESHARAT, L. K.; PALAIA, G.; TENORE, G.; MIGLIAU, G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. **Annalli di stomatologioa,** v. 5, n. 3, p. 108, 2014.

[79] PICCIRILLO, C.; L. CASTRO, P. M. Calcium hydroxyapatite-based photocatalysts for environment remediation: Characteristics, performances and future perspectives. **Journal of Environmental Management,** v. 193, p. 79-91, 2017.

[80] PON-ON, W.; CHAROENPHANDHU, N.; TANG, I.-M.; JONGWATTANAPISAN, P.; KRISHNAMRA, N.; HOONSAWAT, R. Encapsulation of magnetic CoFe2O4 in SiO2 nanocomposites using hydroxyapatite as templates: A drug delivery system. **Materials Chemistry and Physics,** v. 131, n. 1-2, p. 485-494, 2011.

[81] PRAMANIK, S.; AGARWAL, A. K.; RAI, K. N.; GARG, A. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process. **Ceramics International,** v. 33, n. 3, p. 419-426, 2007.

[82] PU'AD, N. M.; ALIPAL, J.; ABDULLAH, H.; IDRIS, M.; LEE, T. Synthesis of eggshell derived hydroxyapatite via chemical precipitation and calcination method. **Materials Today: Proceedings,** v. 42, p. 172-177, 2021.

[83] PU'AD, N. M.; HAQ, R. A.; NOH, H. M.; ABDULLAH, H.; IDRIS, M.; LEE, T. Synthesis method of hydroxyapatite: A review. **Materials Today: Proceedings,** v. 29, p. 233-239, 2020.

[84] PUNJ, S.; SINGH, J.; SINGH, K. Ceramic biomaterials: Properties, state of the art and future prospectives. **Ceramics International,** v. 47, n. 20, p. 28059-28074, 2021a.

[85] RAMAKRISHNAN, R.; WILSON, P.; SIVAKUMAR, T.; JEMINA, I. A comparative study of hydroxyapatites synthesized using various fuels through aqueous and alcohol mediated combustion routes. **Ceramics International,** v. 39, n. 4, p. 3519-3532, 2013.

[86] RAMESH, S.; LOO, Z. Z.; TAN, C. Y.; CHEW, W. J. K.; CHING, Y. C.; TARLOCHAN, F.; CHANDRAN, H.; KRISHNASAMY, S.; BANG, L. T.; SARHAN, A. A. D. Characterization of biogenic hydroxyapatite derived from animal bones for biomedical applications. **Ceramics International,** v. 44, n. 9, p. 10525-10530, 2018.

[87] RATNAYAKE, J. T.; MUCALO, M.; DIAS, G. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends. **Journal of Biomedical Material Research Part B: Applied Biomaterials,** v. 105, n. 5, p. 1285-1299, 2017.

[88] RAY, R. D.; DEGGE, J.; GLOYD, P.; MOONEY, G. Bone regeneration: An experimental study of bone-grafting materials. **The Journal of Bone & Joint Surgery,** v. 34, n. 3, p. 638-647, 1952.

[89] ROY, S. Functionally graded coatings on biomaterials: a critical review. **Materials Today Chemistry,** v. 18, p. 100375, 2020.

[90] SADAT-SHOJAI, M.; KHORASANI, M.-T.; DINPANAH-KHOSHDARGI, E.; JAMSHIDI, A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia,** v. 9, n. 8, p. 7591-7621, 2013a.

[91] SAHOO, S.; SINHA, A.; DAS, M. Synthesis, characterization and in vitro biocompatibility study of strontium titanate ceramic: A potential biomaterial. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials,** v. 102, p. 103494, 2020.

[92] SALAMA, A. Recent progress in preparation and applications of chitosan/calcium phosphate composite materials. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 178, p. 240-252, 2021.

[93] SHANMUGAM, K.; SAHADEVAN, R. Bioceramics-an introductory overview. **Fundamental biomaterials: ceramics,** p. 1-46, 2018.

[94] SHARIFIANJAZI, F.; ESMAEILKHANIAN, A.; MORADI, M.; PAKSERESHT, A.; ASL, M. S.; KARIMI-MALEH, H.; JANG, H. W.; SHOKOUHIMEHR, M.; VARMA, R. S. Biocompatibility and mechanical properties of pigeon bone waste extracted natural nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering: B,** v. 264, p. 114950, 2021.

[95] SINUSAITE, L.; GRIGORAVICIUTE-PURONIENE, I.; POPOV, A.; ISHIKAWA, K.; KAREIVA, A.; ZARKOV, A. Controllable synthesis of tricalcium phosphate (TCP) polymorphs by wet precipitation: Effect of washing procedure. **Ceramics International,** v. 45, n. 9, p. 12423-12428, 2019.

[96] SU, X.; FU, F.; YAN, Y.; ZHENG, G.; LIANG, T.; ZHANG, Q.; CHENG, X.; YANG, D.; CHI, H.; TANG, X. Self-propagating high-temperature synthesis for compound thermoelectrics and new criterion for combustion processing. **Nature communications,** v. 5, n. 1, p. 1-7, 2014.

[97] SUNDARABHARATHI, L.; PONNAMMA, D.; PARANGUSAN, H.; CHINNASWAMY, M.; AL-MAADEED, M. A. A. Effect of anions on the structural, morphological and dielectric properties of hydrothermally synthesized hydroxyapatite nanoparticles. **SN Applied Science,** v. 2, n. 1, p. 1-13, 2020.

[98] SURMENEVA, M. A.; IVANOVA, A. A.; TIAN, Q.; PITTMAN, R.; JIANG, W.; LIN, J.; LIU, H. H.; SURMENEV, R. A. Bone marrow derived mesenchymal stem cell response to the RF magnetron sputter

deposited hydroxyapatite coating on AZ91 magnesium alloy. **Materials Chemistry and Physics,** v. 221, p. 89-98, 2019.

[99] SZCZEŚ, A.; HOŁYSZ, L.; CHIBOWSKI, E. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. **Advances in Colloid and Interface Science,** v. 249, p. 321-330, 2017.

[100] TAN, X.; SU, X.; YAN, Y.; UHER, C.; ZHANG, Q.; TANG, X. New criteria for the applicability of combustion synthesis: The investigation of thermodynamic and kinetic processes for binary Chemical Reactions. **Journal of Alloys and Compounds,** v. 860, p. 158465, 2021.

[101] TONSUAADU, K.; GROSS, K. A.; PLŪDUMA, L.; VEIDERMA, M. J. A review on the thermal stability of calcium apatites. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry,** v. 110, n. 2, p. 647-659, 2012.

[102] TORERO, J. L.; GERHARD, J. I.; MARTINS, M. F.; ZANONI, M. A. B.; RASHWAN, T. L.; BROWN, J. K. Processes defining smouldering combustion: Integrated review and synthesis. **Progress in Energy and Combustion Science,** v. 81, p. 100869, 2020.

[103] TRONCO, M. C.; CASSEL, J. B.; DOS SANTOS, L. A. α-TCP-based calcium phosphate cements: A critical review. **Acta Biomaterialia,** v. 151, p. 70-87, 2022.

[104] UETANABARO, L. C.; CLAUDINO, M.; ZANCAN, R.; ZIELAK, J. C.; GARLET, G. P.; ARAUJO, M. R. DE. Osteoconductivity of Biphasic Calcium Phosphate Ceramic Improves New Bone Formation: A Histologic, Histomorphometric, Gene Expression, and Microcomputed Tomography Study. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 35, n. 1, p. 70–78, 2020.

[105] VARADAVENKATESAN, T.; VINAYAGAM, R.; PAI, S.; KATHIRVEL, B.; PUGAZHENDHI, A.; SELVARAJ, R. Synthesis, biological and environmental applications of hydroxyapatite and its composites with organic and inorganic coatings. **Progress in Organic Coatings,** v. 151, p. 106056, 2021.

[106] WAGNER, D. E.; EISENMANN, K. M.; NESTOR-KALINOSKI, A. L.; BHADURI, S. B. A microwave-assisted solution combustion synthesis to produce europium-doped calcium phosphate nanowhiskers for bioimaging applications. **Acta Biomaterialia,** v. 9, n. 9, p. 8422-8432, 2013.

[107] WALSH, P.; BUCHANAN, F.; DRING, M.; MAGGS, C.; BELL, S.; WALKER, G. J. C. E. J. Low-pressure synthesis and characterisation of hydroxyapatite derived from mineralise red algae. **Chemical Engineering Journal,** v. 137, n. 1, p. 173-179, 2008.

[108] WANG, W.; ITOH, S.; TANAKA, Y.; NAGAI, A.; YAMASHITA, K. Comparison of enhancement of bone ingrowth into hydroxyapatite ceramics with highly and poorly interconnected pores by electrical polarization. **Acta Biomaterialia,** v. 5, n. 8, p. 3132-3140, 2009.

[109] WATANABE, Y.; IKOMA, T.; SUETSUGU, Y.; YAMADA, H.; TAMURA, K.; KOMATSU, Y.; TANAKA, J.; MORIYOSHI, Y. The densification of zeolite/apatite composites using a pulse electric current sintering method: A long-term assurance material for the disposal of radioactive waste. **Journal of the European Ceramic Society,** v. 26, n. 4, p. 481-486, 2006.

[110] WEI, X.; YATES, M. Z. Yttrium-doped hydroxyapatite membranes with high proton conductivity. **Chemistry of Materials,** v. 24, n. 10, p. 1738-1743, 2012.

[111] WU, S.-C.; HSU, H.-C.; WU, Y.-N.; HO, W.-F. Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment. **Materials Characterization,** v. 62, n. 12, p. 1180-1187, 2011.

[112] YELTEN-YILMAZ, A.; YILMAZ, S. Wet chemical precipitation synthesis of hydroxyapatite (HA) powders. **Ceramics International,** v. 44, n. 8, p. 9703-9710, 2018.

[113] YELTEN, A.; YILMAZ, S. Comparison of naturally and synthetically derived hydroxyapatite powders. **Acta Physica Polonica A,** v. 131, p. 55-58, 2017.

[114] ZAOKARI, Y.; PERSAUD, A.; IBRAHIM, A. Biomaterials for adhesion in orthopedic applications: a review. **Engineered Regeneration** v. 1, p. 51-63, 2020a.

[115] ZHU, Q.; ABLIKIM, Z.; CHEN, T.; CAI, Q.; XIA, J.; JIANG, D.; WANG, S. The preparation and characterization of HA/β-TCP biphasic ceramics from fish bones. **Ceramics International,** v. 43, n. 15, p. 12213-12220, 2017.

Capítulo 7

Síntese verde de nanopartículas à base de $CoFe_2O_4$ e sua atividade antibacteriana

Érica Karine Alves de Lima
Pedro Afonso Amorim de Sousa
Elaine Ferreira dos Santos Fernandes
Ketelly Estefane da Silva Alves
Aluska do Nascimento Simões Braga
Valdeci Bosco dos Santos

Resumo: Nos últimos anos, o aumento da resistência bacteriana a tratamentos convencionais tem se tornado uma preocupação global. Esse fenômeno tem impulsionado pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, capazes de combater infecções resistentes. Dentro desse contexto, as nanopartículas ferromagnéticas têm se destacado como uma alternativa promissora. Além de suas propriedades físicas e químicas únicas, apresentam a vantagem de serem ajustáveis em nível molecular, o que lhes confere um amplo espectro de aplicações, especialmente no campo da biomedicina. Entre os métodos de preparação dessas nanopartículas, a síntese verde tem ganhado relevância por ser uma rota ambientalmente sustentável. Diferente das abordagens tradicionais, que utilizam reagentes químicos, a síntese verde emprega precursores naturais e biológicos, minimizando a geração de resíduos perigosos e reduzindo a toxicidade ambiental e custo final do produto. Nesse cenário, as nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) puras e dopadas surgem como candidatas de destaque devido às suas propriedades magnéticas, elétricas e antimicrobianas. Neste trabalho, foi realizado um breve levantamento bibliográfico (2019 a 2024) sobre a síntese verde de nanopartículas à base de $CoFe_2O_4$ com ênfase em sua atividade antibacteriana. A busca foi realizada nas bases de dados *Scopus* e *Web of Science*, que resultaram em 13 artigos. Os resultados demonstram que estas nanopartículas foram sintetizadas com sucesso, mediadas por precursores naturais ou biológicos (extratos de dentes de alho, de coentro, de grãos de pólen da tamareira, filtrado de cultura de fungos, dentre outros), sendo estes, materiais de baixo custo e atóxicos. Além disso, presentam eficiente ação antibacteriana contra variados patógenos bacterianos (*E. coli, S. aureus, B. subtilis, L. monocytogenes, P. aeruginosa, K. pneumoniae, C. albicans* e outros), sendo uma oportunidade promissora para a área biomédica. Há necessidade de mais pesquisas científicas sobre as propriedades e o potencial biomédico destas nanopartículas, visto que a quantidade de publicações sobre essa aplicação ainda é limitada.

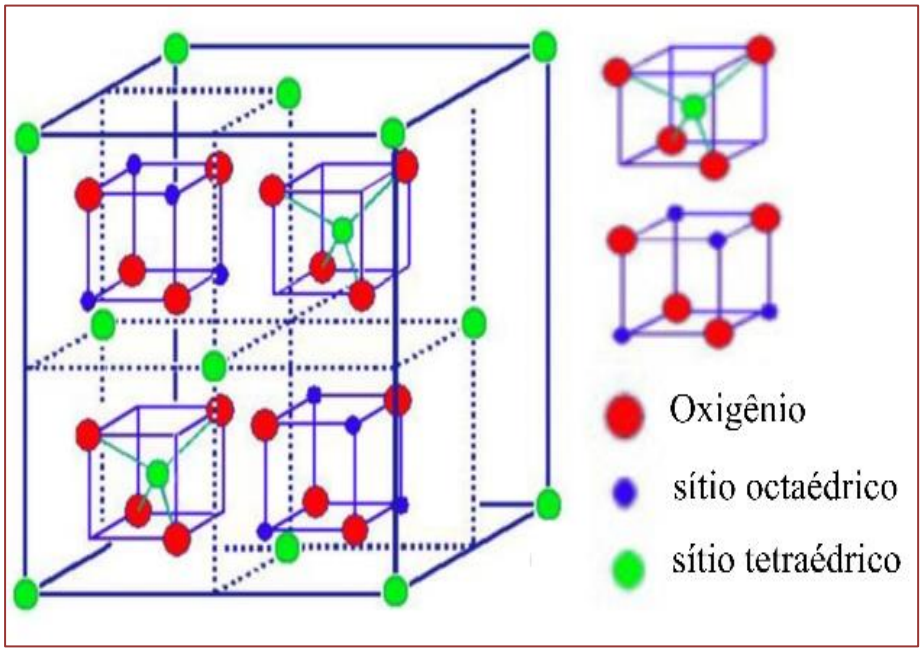
Palavras-chave: Síntese verde. Ferrita de cobalto. Dopantes. Antibacteriano.

1. INTRODUÇÃO

A síntese "não verde" ou síntese convencional tende a resultar em parâmetros negativos, entre os quais é possível destacar: a toxicidade ambiental, o uso de matéria-prima não renovável e a geração de resíduos perigosos (Shahriarinour *et al*., 2023; Manju e Raji, 2019). Desta maneira, a síntese verde surgiu como um processo químico favorável ao meio ambiente, pois usa recursos naturais e biológicos (Kabylinska *et al*., 2021; El-Sayed *et al*., 2020). Além disso, apresenta vantagens por empregar precursores de baixo custo e fácil acesso, possibilitando sua aplicação na produção de nanomateriais por meio de diversas rotas de síntese, como sol-gel, hidrotermal, precipitação, entre outras (Mahajan *et al*., 2019).

Os nanomateriais possuem dimensão de partícula entre 1 e 100 nm, sendo empregados em diversos campos científicos, incluindo biologia, química, física, ciência e engenharia de materiais (Fiaz *et al.,* 2023; Huifang *et al*., 2020). As nanoferritas do tipo espinélio (AB_2O_4) são cerâmicos conhecidos por suas características ópticas, eletrônicas, magnéticas, catalíticas e fotoelétricas (Meidanchi, 2020; Naik *et al*., 2019a). Desse modo, a ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) é um material que possui uma estrutura espinélio inversa, composta por um arranjo cúbico de íons oxigênio com os cátions metálicos distribuídos em sítios octaédricos (Ferro) e tetraédricos (Cobalto) (Figura 1).

Figura 1 - Representação da estrutura espinélio inverso do $CoFe_2O_4$.



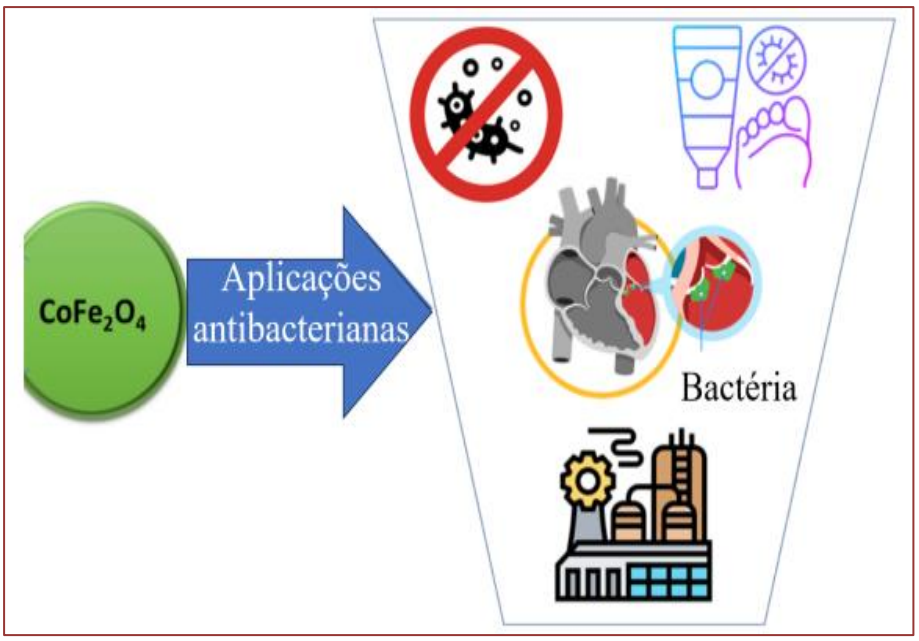
Fonte: Rubio, 2014.

Este material se comporta como um óxido magnético duro, além de apresentar alta estabilidade química, alta anisotropia magnética em certas direções cristalográficas e coercividade (Punyasamudram *et al.,* 2024; Maksoud *et al*., 2019). Estas propriedades despertam o interesse de muitos cientistas por possibilitar sua utilização em diversas áreas, como sensores, células solares e biomedicina (processo de distribuição de

medicamento, tratamento de hipertermia magnética, entre outros) (Hoa *et al*., 2023; Dehghani *et al*., 2022; Naghizadeh *et al*., 2020).

Uma das principais causas de mortalidade ainda são as doenças bacterianas. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e com dados (ano 2020) relatados por 87 países, os altos níveis de resistência em bactérias não apenas causam *sepse*, mas também aumentam a resistência a tratamentos de várias infecções comuns entre a população (ONU Brasil, 2022). Neste sentido, as nanopartículas de ferrita de cobalto também têm sido aplicadas em uma extensa variedade de atividades antibacterianas contra diversos patógenos humanos (Shahriarinour *et al*., 2023; Baskar *et al*., 2022; Naik *et al*., 2019b). Estas propriedades podem ser aprimoradas e/ou otimizadas com a introdução controlada de vários cátions (Ag, Ni, Zn, Mn, entre outros) na estrutura cristalina da $CoFe_2O_4$ (Hoa *et al*., 2023; Naik *et al*., 2019a; Naik *et al*., 2019b). Na Figura 2, é apresentada uma representação das diversas aplicações antibacterianas em que as nanopartículas de $CoFe_2O_4$ atuam.

Figura 2 - Nanopartículas de $CoFe_2O_4$ e suas diversas aplicações antibacterianas.



Fonte: Adaptado de Ameen e Majrashi, 2023.

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo apurar o qualitativo de publicações disponíveis nas bases de documentos científicos *Scopus* e *Web of Science*, destacando a produção de ferritas à base de cobalto por síntese verde e seu potencial antibacteriano.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido de acordo com as pesquisas realizadas nas bases de periódicos *Scopus* e *Web of Science*, adotando como temática "Nanopartículas de ferritas à base de cobalto via síntese verde para aplicação antibacteriana". As combinações de palavras-chave utilizadas foram: *"green synthesis", "green synthesis and cobalt ferrite*

nanoparticles" e *"green synthesis and cobalt ferrite nanoparticles and antibacterial"*, aplicadas nos campos de título e/ou resumo. Foram empregados critérios de exclusão, tais como: materiais que não fossem classificados na categoria de artigos de revista, artigos publicados fora do intervalo de 2019 a 2024 e artigos duplicados. Dessa forma, foram selecionados apenas os artigos que passaram por esse processo de filtragem até julho de 2024.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos a partir das buscas realizadas nas bases de artigos *Scopus* e *Web of Science*. Quando associadas às palavras-chave *"green synthesis"*, foram identificados um grande número de resultados, totalizando 39.547 publicações entre os dois bancos de dados. Entretanto, ao utilizar combinações mais específicas de palavras-chave, observou-se uma diminuição considerável no número de trabalhos publicados. Assim, para as combinações *"green synthesis and cobalt ferrite nanoparticles"* e *"green synthesis and cobalt ferrite nanoparticles and antibacterial"*, foram contabilizados, respectivamente, 51 e 13 resultados.

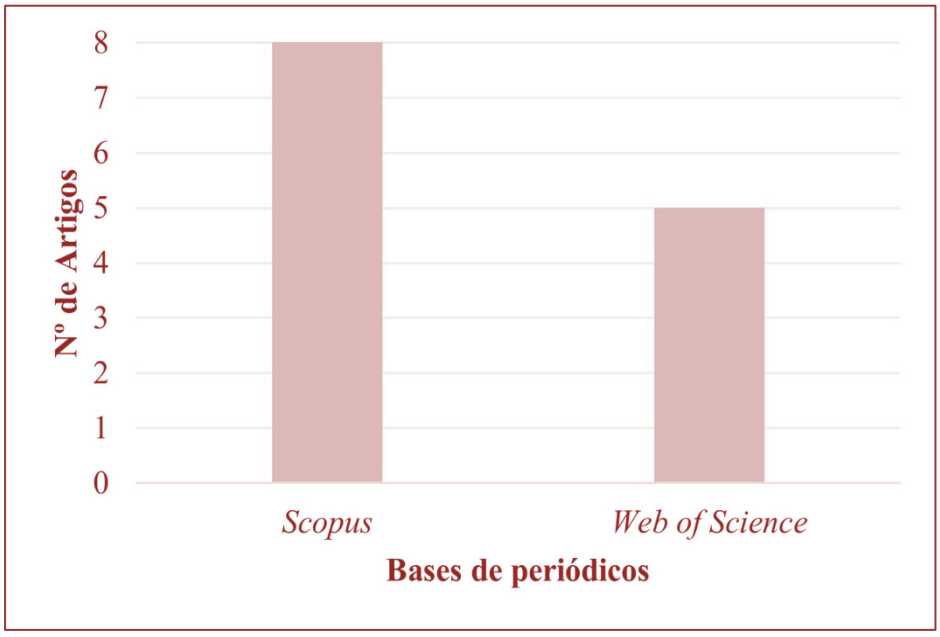
Tabela 1. Relação entre palavras-chave e resultados reportados pelas bases de artigos.

PALAVRAS-CHAVE	ARTIGO		
	Scopus	***Web of Science***	**TOTAL**
"green synthesis"	17.200	22.347	39.547
"green synthesis" and "cobalt ferrite nanoparticles"	20	31	51
"green synthesis" and "cobalt ferrite nanoparticles" and "antibacterial"	8	5	13

Fonte: Autor, 2024.

A Figura 3 destaca o qualitativo de artigos distribuídos entre as duas bases consultadas, considerando a terceira combinação de palavras-chave por melhor representar a intenção da presente pesquisa. Assim, de um total de 13 artigos, a base *Scopus* reportou 8 documentos, enquanto a *Web of Science* reportou 5 documentos.

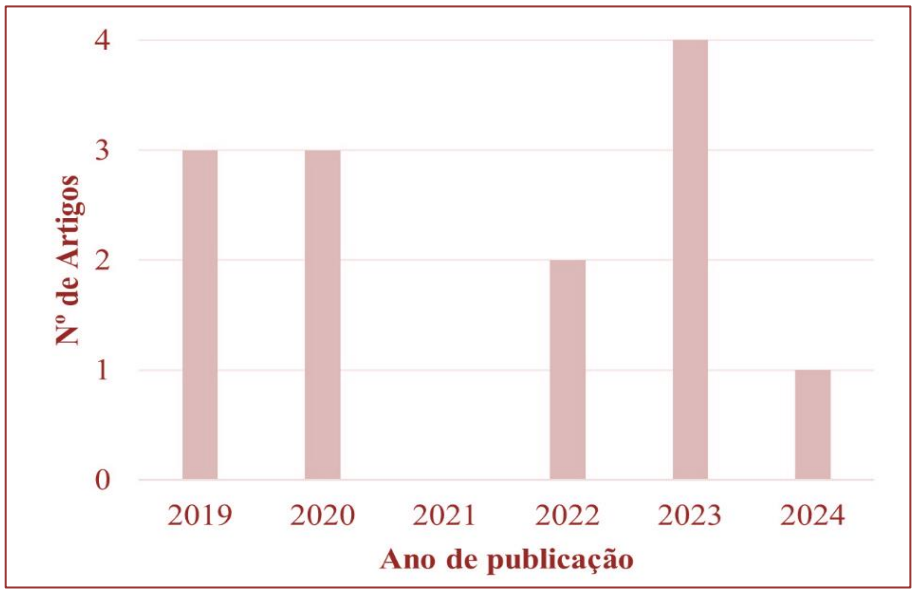
Figura 3 - Distribuição de artigos depositados nas bases de periódicos.



Fonte: Autor, 2024.

A distribuição de artigos ao longo dos anos de 2019 a 2024 está explicitada na Figura 4. Nos anos de 2019 e 2020, foram produzidos 3 artigos em cada ano, marcando um processo constante de publicação.

Figura 4 - Distribuição de artigos por ano de publicação.



Fonte: Autor, 2024.

Dentre os artigos do ano de 2019, o do autor Mahajan *et al.* (2019), que tem como tema "Sintetizado verde (*Ocimum sanctum and Allium sativum*) de nanopartículas de ferrita de cobalto dopada com Ag para aplicação antibacteriana", evidenciou a síntese destas nanopartículas via método sol gel, auxiliado por extrato de sementes de manjericão santo (*Ocimum sanctum)* e extrato de dentes de alho (*Allium sativum)*. A atividade antibacteriana (Tabela 2) de todas as amostras ($Ag_xCo_{1-x}Fe_2O_4$, x = 0, 0.005, 0.01, 0.02) preparadas foi mais eficaz contra a cepa bacteriana gram-positiva (*Listeria monocytogenes*) em comparação a gram-negativa (*Escherichia coli*), principalmente devido à diferença em sua parede celular.

Tabela 2. ZOI (zona de inibição) para as nanopartículas sintetizadas para as cepas bacterianas testadas.

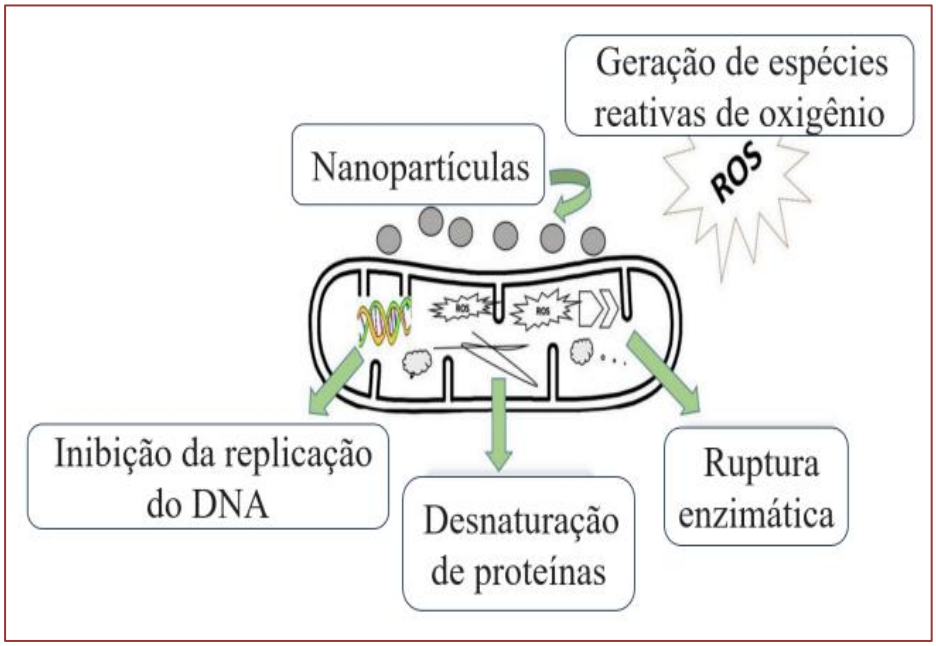
Amostras	ZOI (mm) - E. coli	ZOI (mm) - L. monocutoaenes
C0	6	7
C1	7	7
C2	7	8
C3	8	9
T0	7	6
T1	7	7
T2	8	8
T3	9	9
G0	---	---
G1	---	7
G2	5	8
G3	7	8

Nota: Amostras do grupo C (C0, C1, C2 e C3), grupo T (T0, T1, T2 e T3) e grupo G (G0, G1, G2 e G3), respectivamente, sintetizadas via sol gel, síntese verde (extrato de sementes de manjericão santo) e síntese verde (extrato de dentes de alho); Os índices 0, 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, às concentrações de 0; 0,005; 0,01; 0,02 de Ag.

Fonte: Mahajana *et al.,* 2019.

Um mecanismo de ação modificado para esta atividade antibacteriana, foi proposto neste estudo, conforme apresentado na Figura 5. Os radicais livres inibem as enzimas, resultando em seu mau funcionamento e, consequentemente, levando à redução do crescimento bacteriano ou à morte das bactérias. O dopante Ag induz a alta taxa de geração de espécies de oxigênio reativas na superfície, que conduzem à morte das bactérias.

Figura 5 - Mecanismo proposto de ação ROS modificado para atividade antibacteriana.



Fonte: Adaptado de Mahajana *et al.,* 2019.

Em outra publicação, agora do ano de 2020 (El-Sayed *et al.*, 2020), é destacada a utilização de um filtrado de cultura de fungos *Monascus purpureus* ATCC16436 para a síntese de nanopartículas de ferrita de cobalto, as quais mostraram potentes atividades antibacterianas contra todas as espécies bacterianas testadas (*E. coli, S. aureus, P. aeruginosa e K. pneumoniae*) com faixa de concentração inibitória mínima entre 250 – 500 $\mu g.mL^{-1}$ (Tabela 3). Já no ano de 2021, não houve publicação.

Tabela 3. Atividade antibacteriana das nanopartículas de $CoFe_2O_4$ contra as diferentes cepas de bactérias patogênicas testadas.

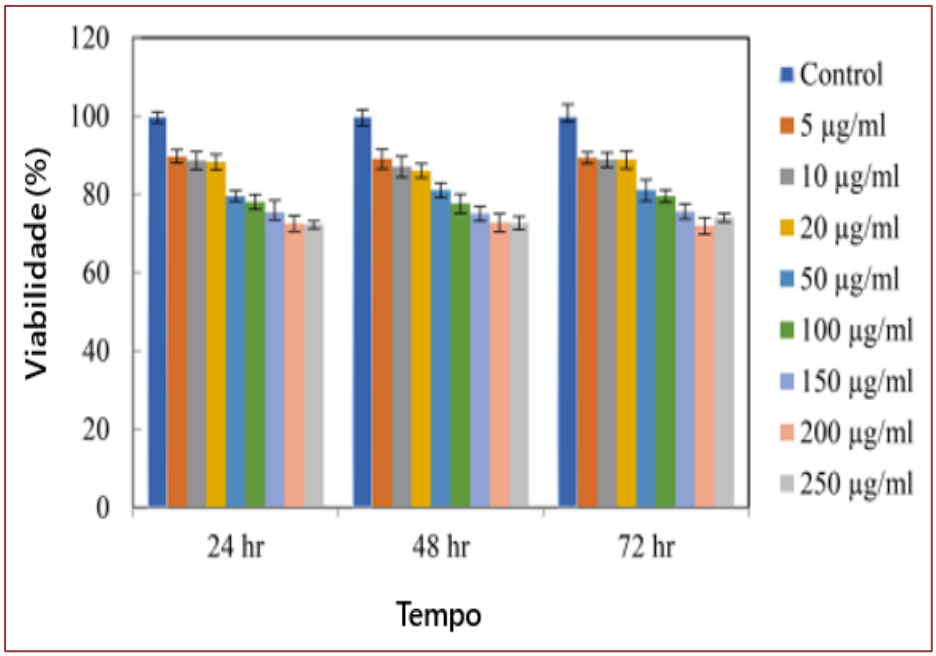
Concentração de nanopartículas ($\mu g\ mL^{-1}$)	Diâmetro de inibição (mm)			
	E. coli	***Staph. aureus***	***P. aeruginosa***	***K. pneumoniae***
0,00 (C)	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$
100	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$	$0,00^{d}$
250	$10,61\pm0,21^{c}$	$11,55\pm0,61^{c}$	$14,09\pm0,67^{c}$	$0,00^{d}$
500	$15,73\pm0,89^{b}$	$18,79\pm0,52^{b}$	$21,87\pm0,51^{b}$	$10,32\pm0,57^{b}$
1000	$25,78\pm0,74^{a}$	$30,64\pm0,66^{a}$	$35,43\pm0,82^{a}$	$17,58\pm0,69^{a}$

Nota: Valores médios ± desvio padrão calculados para medições em triplicado de dois experimentos independentes. Os valores com a-d sobrescritos diferentes em mesma coluna são considerados estatisticamente diferentes ($P \leq 0,05$).
Fonte: Adaptado de El-Sayed *et al.*, 2020.

Nos anos de 2022 e 2023, constatou-se um inexpressivo aumento no número de publicações, com 2 e 4 artigos, respectivamente. Entre os documentos científicos de 2022, destaca-se o artigo de Dehghani *et al.* (2022), que investigou nanomateriais de $CoFe_2O_4$ sintetizados pelo método de síntese verde utilizando extratos de rutina como agente redutor. Em seguida, foram desenvolvidos nanocompósitos inovadores e multifuncionais à base de grafite, como grafite@$CoFe_2O_4$ (G@$CoFe_2O_4$) e grafite-octadecilamina@$CoFe_2O_4$ (G-ODA@$CoFe_2O_4$), por meio de deposição por precipitação, com o objetivo de aplicações

biomédicas e avaliação da melhoria das propriedades antibacterianas e citotóxicas. Os nanocompósitos G-ODA@$CoFe_2O_4$ apresentaram excelente função antimicrobiana contra bactérias gram-negativas (*E. coli*) e gram-positivas (*S. aureus*), além de citotoxicidade insignificante para concentrações inferiores a 50 µg/mL (viabilidade celular > 80%) após 24 horas de incubação (Figura 6). A eficiência e o sucesso da atividade antibacteriana sugerem que esses nanocompósitos representam uma oportunidade promissora para o desenvolvimento de instrumentos biomédicos antimicrobianos avançados no futuro.

Figura 6 - Citotoxicidade baseada em ensaio MTT do nanocompósito G-ODA@$CoFe_2O_4$ em concentrações variantes após 24, 48 e 72 horas de exposição à linha celular de fibroblastos a 37 °C.



Fonte: Adaptado de Dehghani *et al.,* 2022.

Ainda em 2022, Sudram *et al.* (2022) sintetizaram nanopartículas de $CoFe_2O_4$ dopada com níquel (Ni, em concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1%) (CFO), utilizando extratos de coentro (*Coriandrum sativum)* pela técnica de precipitação. Foram avaliados os efeitos antibaterianos e anticancerígenos dessas nanopartículas nas células MCF-7 do câncer de mama. Os resultados mostraram que 0,8% de Ni como dopante nas CFO aumentou significativamente a inibição do crescimento contra os patógenos bacterianos *S. Aureus*, *S. pneumoniae, K. pneumoniae e P. Aeruginosa,* conforme mostrado na Tabela 4 e na Figura 7. Para essa concentração de Ni, a menor zona inibitória de crescimento foi de 11,47±0,43 mm contra *P. aeruginosa.* Em comparação, o uso do antibiótico padrão cloranfenicol (20 µg) resultou em uma zona de inibição variando entre 13 a 17 mm. Assim, a concentração de 0,8% de Ni em CFO foi considerada ideal para uma efetiva atividade antibacteriana contra os patógenos testados.

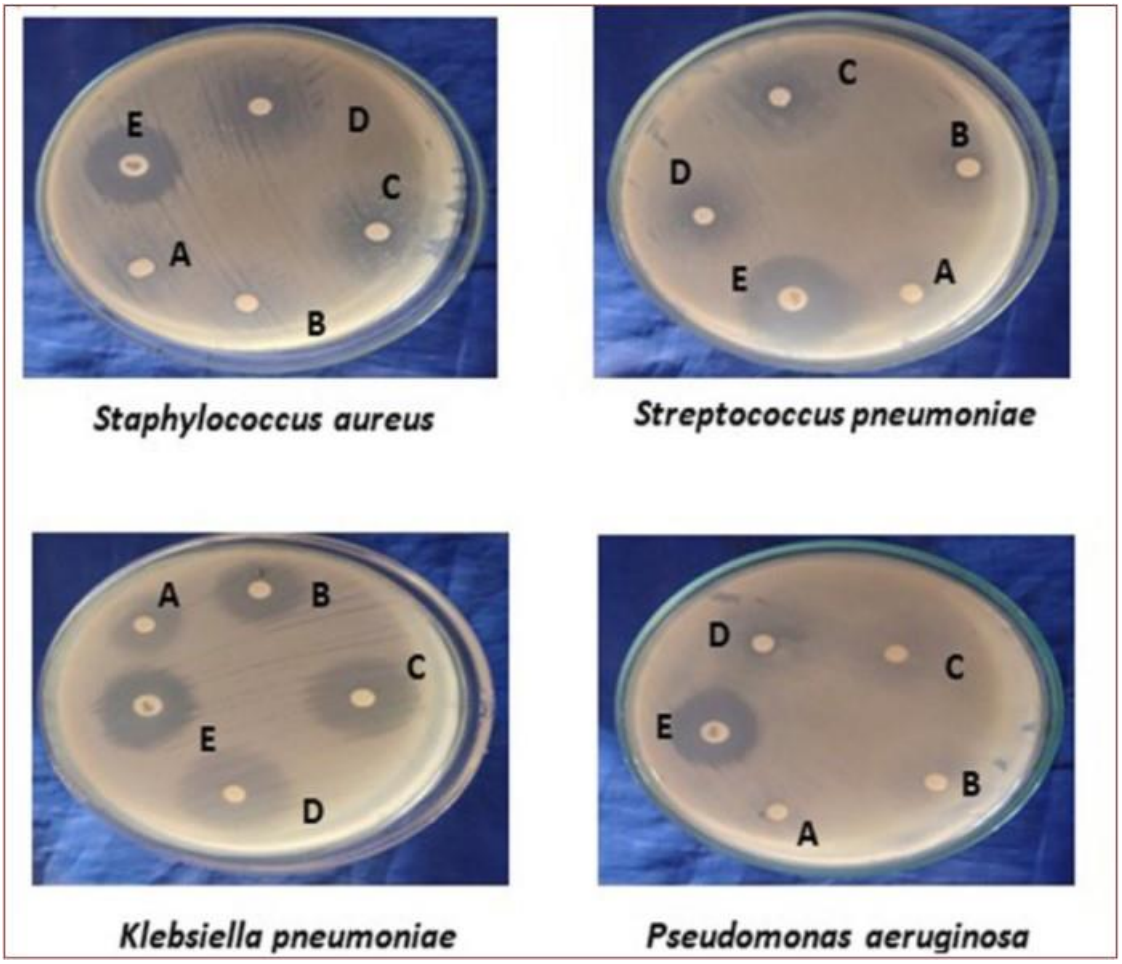
Tabela 4 - Atividade antibacteriana das nanopartículas de CFO dopadas com 0,8% de Ni contra bactérias patogênicas testadas.

Nome da bactéria	Zona de inibição (mm em diâmetro)				
	25 µg	50 µg	100 µg	150 µg	Chloramphenicol (20 µg)
Staphylococcus aureus	07,46 ± 0,31	08,18 ± 0,24	09,06 ± 0,42	13,06 ± 0,72	17,08 ± 1,04
Streptococcus pneumoniae	09,04 ± 0,28	10,12 ± 0,45	10,68 ± 0,74	13,54 ± 0,64	14,24 ± 1,21
Klebsiella pneumoniae	07,62 ± 0,41	08,04 ± 0,34	10,14 ± 0,52	13,25 ± 0,61	14,04 ± 0,18
Pseudomonas aeruginosa	08,23 ± 0,47	09,86 ± 0,31	10,05 ± 0,46	11,17 ± 0,43	13,06 ± 0,84

Nota: Valores médios ± desvio padrão.

Fonte: Sudram *et al.*, 2022.

Figura 7 - Efeito antibacteriano das nanopartículas de CFO dopadas com 0,8% de Ni contra bactérias patogênicas testadas. A, 25 µg; B, 50 µg; C, 100 µg; D, 150 µg.

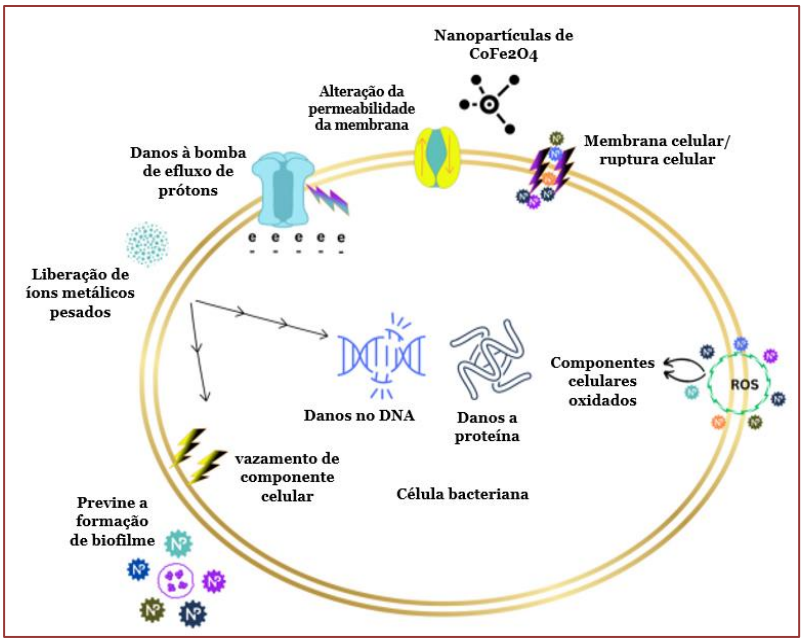


Fonte: Sudram *et al.*, 2022.

Em 2023, Ansari *et al.* (2023) relataram a síntese bem-sucedida de nanopartículas de ferrita de espinélio, precisamente $CoFe_2O_4$ utilizando uma abordagem de química verde. O método envolveu o uso de extrato de folhas de *Aloe vera* como agente redutor e

estabilizante para a formação dessas nanopartículas. Os resultados mostraram um amplo potencial para aplicações biomédicas e terapêuticas, incluindo o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas relacionadas a biofilmes, além de inibição da proliferação de células cancerígenas do cólon. Em termos de atividade antibacteriana, as nanopartículas de $CoFe_2O_4$ apresentaram uma concentração inibitória mínima (MIC) variando de 0,25–0,75 mg/mL contra os patógenos bacterianos e fúngicos testados, incluindo MRSA, MDR-PA, *C. albicans, C. parapsilosis, E. coli, P. aeruginosa e S. aureus.* A Figura 8 apresenta o possível mecanismo antibacteriano das nanopartículas $CoFe_2O_4$.

Figura 8 - Mecanismo antibacteriano das nanopartículas $CoFe_2O_4$.



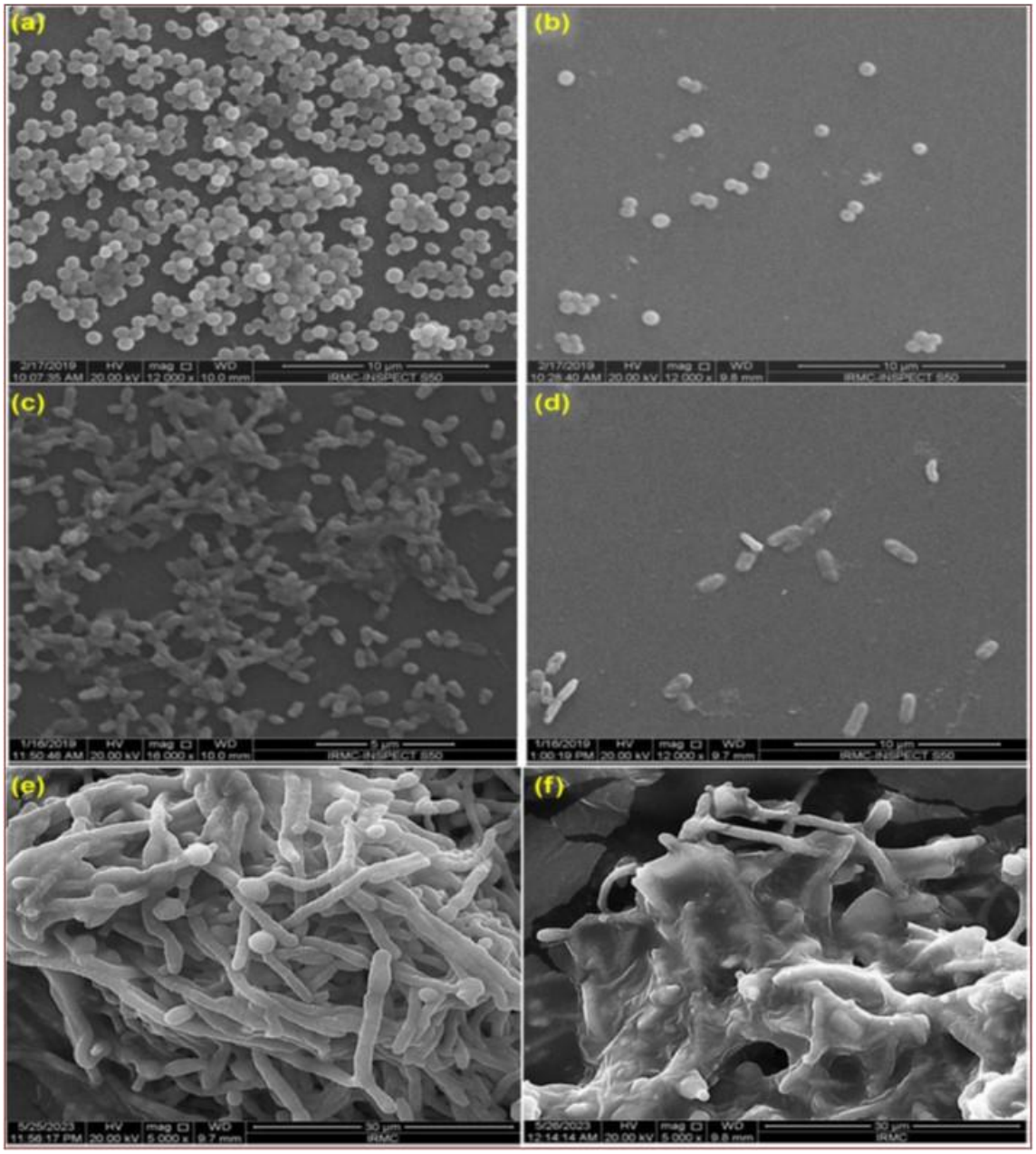
Fonte: Ansari *et al.,* 2023.

Concentrações de 0,125, 0,25 e 0,5 mg/mL dessas nanopartículas também demonstraram inibição na formação de biofilmes, com uma redução de 37,3% a 61,8% em cepas selecionadas (*P. aeruginosa*, MRSA e *C. albicans*). De acordo com a Figura 9 (b, d e f), observa-se que as nanopartículas inibiram significativamente a colonização e a agregação das células formadas de biofilmes, em comparação ao controle (superfície de vidro), no qual é evidente a adesão, colonização e agregação em grande número de células MDR-PA, MRSA e *C. albicans* (Figura 9 - a, c, e). Biofilmes atuam como barreiras físicas contra antibióticos e promovem um aumento na taxa metabólica das bactérias, contribuindo para a resistência aos antibióticos convencionais. Assim, as nanopartículas de $CoFe_2O_4$ se mostraram eficazes na prevenção do crescimento de biofilmes das cepas analisadas.

Da mesma forma, em 2023, Shahriarinour *et al.* (2023) utilizaram grãos de pólen da tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) para a síntese hidrotermal de nanopartículas $CoFe_2O_4$. Essas nanopartículas foram consideradas seguras, ecologicamente corretas e promissoras para aplicações biomédicas devido à sua atividade antibacteriana intrínseca. Os grãos de pólen contêm nutrientes essenciais como carboidratos, proteínas, compostos fenólicos, flavonóides, bem como vitaminas e minerais. Além de controlar o tamanho e a

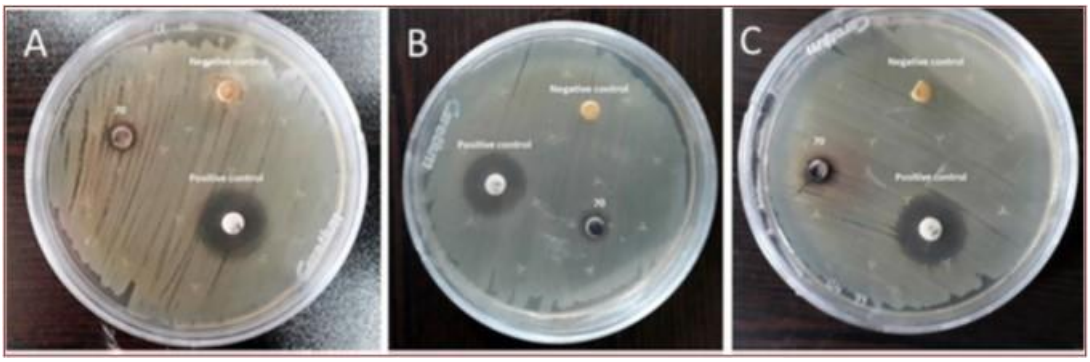
morfologia das nanopartículas, os grãos de pólen também atuam como estabilizadores. As nanopartículas, em concentração de 70 µg/mL, apresentaram notável atividade antibacteriana contra bactérias patogênicas (Figura 10). A zona máxima de inibição observada para *Escherichia coli, Staphylococcus aureus e Klebsiella pneumoniae* foi de 10 mm, 12 mm e 12 mm, respectivamente. Portanto, os resultados demonstram que as nanopartículas de $CoFe_2O_4$ sintetizadas com grãos de pólen da tamareira têm potencial para uso em aplicações medicinais.

Figura 9 - Análise de Microscopia eletrônica de varredura mostrando efeitos das nanopartículas de $CoFe_2O_4$ sobre a formação de biofilme de (b) MRSA, (d) MDR-PA e (f) *C. Albicans;* (a), (c) e (e) são o controle (sem NPs de $CoFe_2O_4$).



Fonte: Adaptado de Ansari *et al.,* 2023.

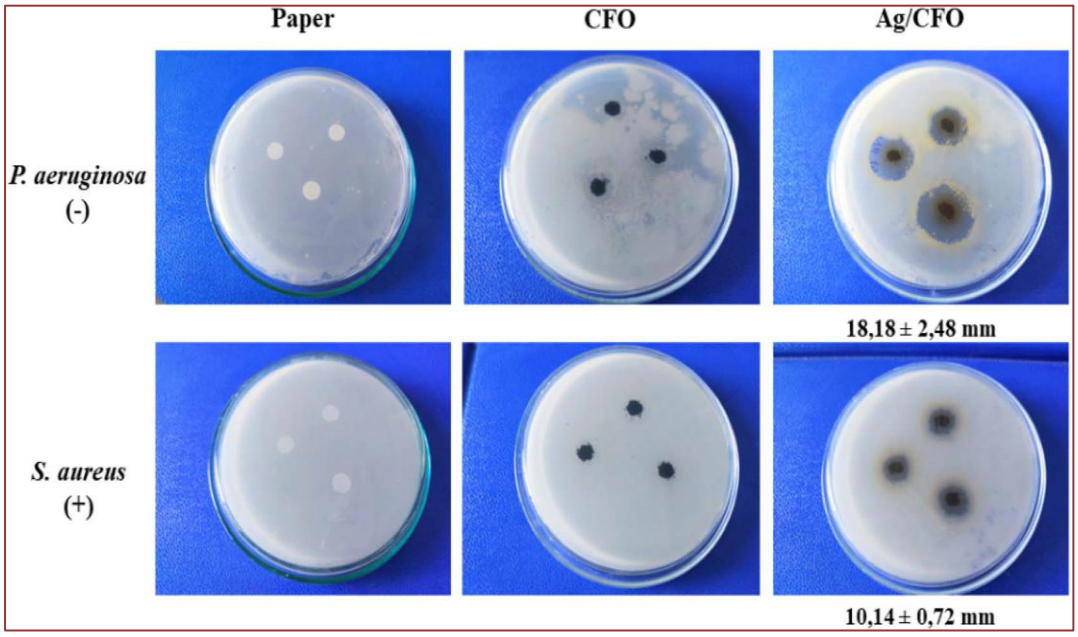
Figura 10 - Zona de não crescimento relacionada as cepas (a) *Escherichia coli, (b) Klebsiella pneumoniae e (c) Staphylococcus aureus* à concentração de 70 ppm.



Fonte: Shahriarinour *et al.,* 2023.

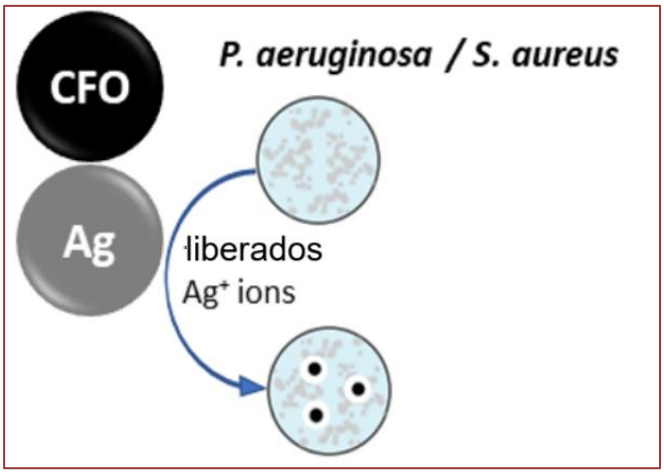
Em 2023, Hoa *et al.* (2023) sintetizaram nanopartículas de $CoFe_2O_4$ (CFO) e $CoFe_2O_4$ dopada com prata ($CoFe_2O_4$@Ag, também abreviada como Ag/CFO) via método hidrotérmico, e usando extrato de jasmim como agente redutor de íons Ag^+. As nanopartículas de Ag/CFO apresentaram atividade antibacteriana (Figura 11) contra cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas. Para *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa), foi observada uma zona de inibição de 18,18 ± 2,48 mm, enquanto para *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva), o valor foi de 10,14 ± 0,72 mm. Por outro lado, as amostras contendo apenas CFO não demonstraram eficácia antibacteriana semelhante. Os íons de Ag^+ incorporados nas nanopartículas de Ag/CFO podem ser liberados e interagir com as membranas bacterianas, resultando em sua destruição (Figura 12).

Figura 11 - Atividade antimicrobiana das nanopartículas $CoFe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$@Ag para bactérias testadas.



Fonte: Adaptado de Hoa *et al.*, 2023.

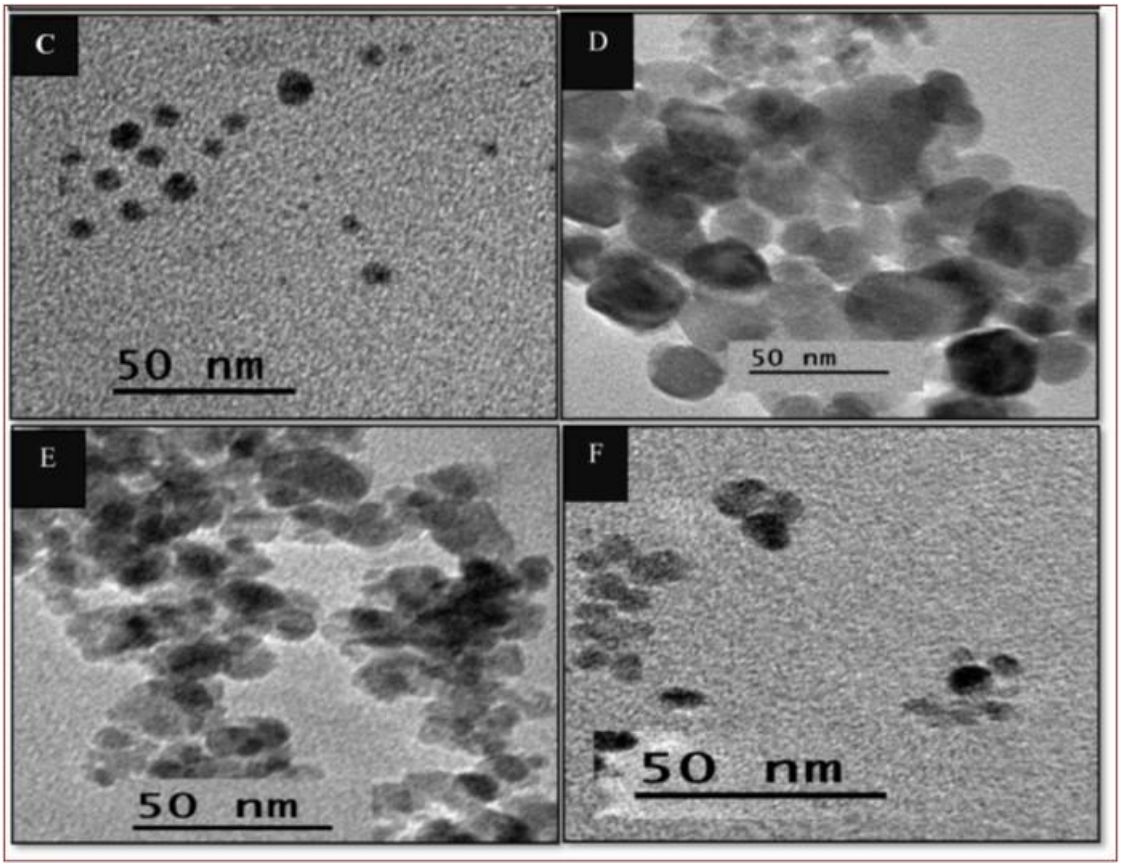
Figura 12 - O mecanismo de destruição das bactérias pelas nanopartículas de Ag/CFO.



Fonte: Hoa *et al.*, 2023.

Ainda no ano de 2023, Fiaz *et al.* (2023) sinterizaram nanopartículas magnéticas $CoFe_2O_4$ (CF) e $CoFe_2O_4$ dopada com manganês ($CoMnFe_2O_4$ - CFM). Essas mesmas composições também foram produzidas com o auxílio de extrato etanólico de *Swertia Chirata (*S.C), que atuou como agente redutor, sendo denominadas de $CoFe_2O_4$@S.C (SCF) e $CoMnFe_2O_4$ @S.C (SCFM). Todos nanopós foram avaliados quanto ao seu potencial anticâncer, antidiabético e antibacteriano *in vitro*. Em termos de atividade antibacteriana, a ação das nanopartículas foram avaliadas contra cepas relacionadas a envenenamento alimentar e à síndrome cutânea (*Staphylococcus aureus* - ATCC-6538) e endocardite; intoxicação alimentar (*Bacillus subtilis* - ATCC-6633); infecção de feridas, trato urinário e disenteria (*Escherichia coli* - ATCC-25922); *Klebseilla pneumoniae* (ATCC- 1705), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-15442) e *Escherichia coli, Staphylococcus hemolyticus, Pseudomonas aeruginosa e* MRSA. Dentre os nanomateriais avaliados, quase todas as amostras, mesmo sem adição de fármacos, demonstraram atividade contra ao menos um patógeno bacteriano. As nanopartículas compostas por CFM, SCF, SCFM foram ativas contra a bactéria *S. aureus* nas concentrações de 100 µg/mL, 100 µg/mL e 50 µg/mL, respectivamente. Já as nanopartículas CF, SCF e SCFM foram ativas contra *Pseudomonas aeruginosa* na concentração de 100 µg/mL. A dispersão uniforme e o formato esférico das nanopartículas à base de $CoFe_2O_4$ podem ter contribuído para a inativação bacteriana. As amostras CF (Figura 13c) e CFM (Figura 13 d) apresentaram tamanho médio de partículas em torno de 20 nm, enquanto que as nanopartículas mediadas por *Swertia Chirata* (SCF - Figura 13e e SCFM - Figura 13f) apresentaram valores médios menores, variando entre 5 a 10 nm.

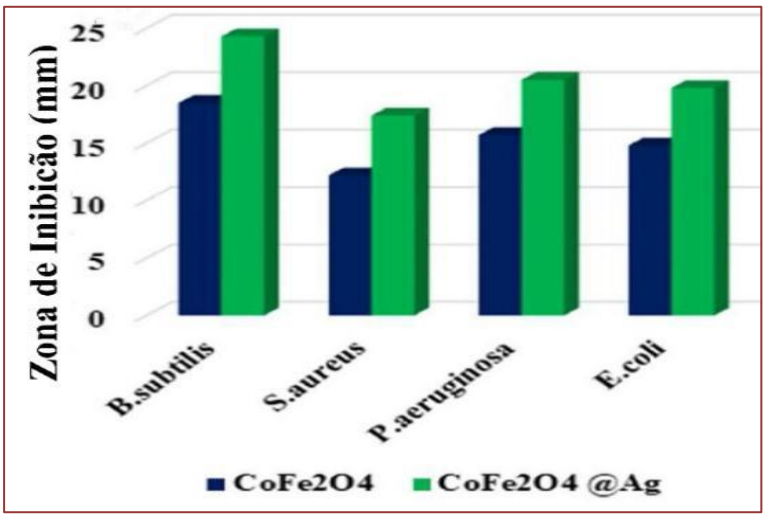
Figura 13 - Imagens de microscopia eletronica de transmissão das nanoparticulas: c) CF, d) CFM; e) SCF ; f) SCFM.



Fonte: Fiaz *et al.*, 2023.

Para o ano de 2024 (até mês de julho), foi registrado um artigo publicado, no qual Punyasamudram *et al.* (2024) descreveram o uso de agentes redutores e tamponadores produzidos a partir do extrato da casca de *Carissa carandas* para a biosíntese verde de nanopartículas de $CoFe_2O_4$ e nanocompósitos de $CoFe_2O_4$@Ag. *Carissa carandas*, uma erva medicinal tradicional com alta concentração de fitoquímicos antioxidantes, desempenhou um papel essencial na estabilização das nanopartículas de óxidos metálicos devido aos seus componentes ativos. Os resultados mostraram que os nanocompósitos contendo prata apresentaram uma ação antibacteriana significativamente superior em relação ao material sem prata (Figura 14). Os nanocompósitos demonstraram excelente atividade contra patógenos bacterianos humanos, incluindo bactérias gram-positivas *(B. subtilis e S. Aureus)* e gram-negativas *(P. aeruginosa e E. Coli)*, com zonas de inibição de 24,3 ± 0,57, 17,4 ± 0,75 e 20,5 ± 0,5, 19,8 ± 1,6 mm, respectivamente.

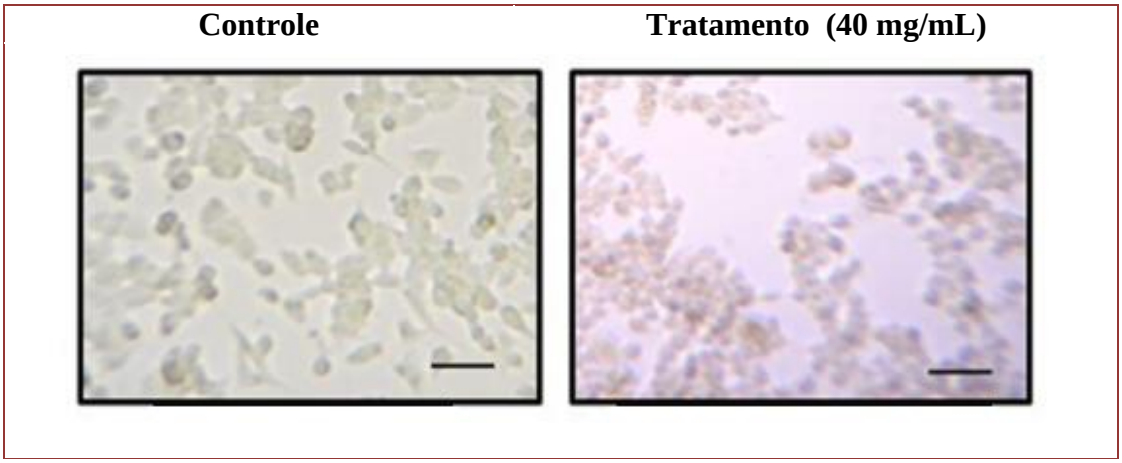
Figura 14 - Comparativo da atividade antimicrobiana dos nanomateriais à verde, $CoFe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$@Ag para bactérias estudadas.



Fonte: Adaptado de Punyasamudram *et al.,* 2024.

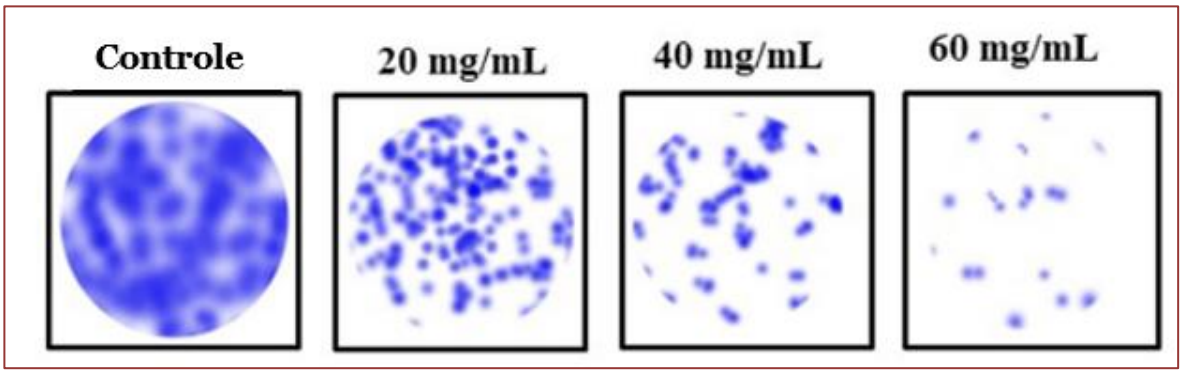
Embora o foco do presente trabalho em termos de aplicação seja o potencial antibacteriano das nanopartículas à base de $CoFe_2O_4$, alguns dos pesquisadores já citados, em conjunto com a atividade antibacteriana, também investigaram o grande impacto citotóxico destas nanopartículas contra células cancerígenas humanas de fígado e mama, assim como o potencial antidiabético (El-Sayed *et al.,* 2020; Sudram *et al.*, 2022; Ansari *et al.,* 2023, Fiaz *et al.,* 2023; Punyasamudram *et al.,* 2024). Dessa forma, o registro de alguns relatos observados se faz necessário, visto a clara importância destas pesquisas. Sudram *et al.* (2022), por exemplo, demonstraram em suas pesquisas que as nanopartículas de $CoFe_2O_4$ dopadas com 0,8% de Ni promoveram: efeito citotóxico nas células MCF-7, bem como alterações morfológicas (Figura 15); e redução considerável da colonização e adesão das células MCF-7, dependendo da concentração, comparativamente ao controle (célula não tratada) (Figura 16).

Figura 15 - Imagem microscopica das alterações morfológicas das células MCF-7. promovidas pela dopagem de 0,8% de Ni em CFO.



Fonte: Sudram *et al.*, 2022.

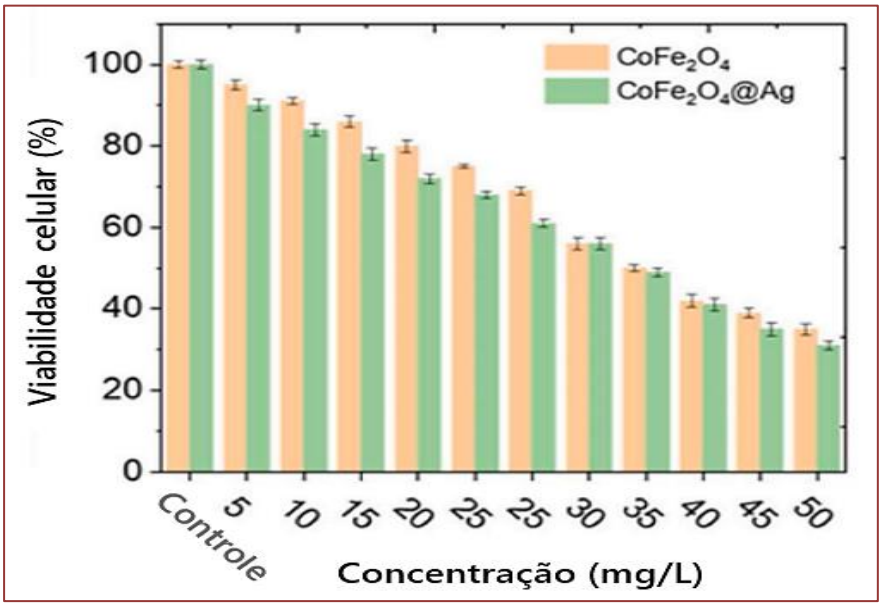
Figura 16 - Efeito do dopante Ni (0,8%) em CFO sobre a formação de colônias de células MCF-7.



Fonte: Sudram *et al.*, 2022.

Da mesma forma, a citotoxicidade (Figura 17) de nanopós de $CoFe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$@Ag sintetizados com extratos de *Carissa carandas* foi avaliada usando célula humana de câncer de mama MCF-7, resultando em viabilidade celular drasticamente reduzida a uma concentração de inibição de 50% (60 mg/mL). O menor tamanho de partícula desses nanomateriais e os fitoconstituintes da planta *Carissa carandas* demonstraram ter atividades anticancerígenas específicas, o que contribui efetivamente para o grande efeito citotóxico (Punyasamudram *et al.,* 2024).

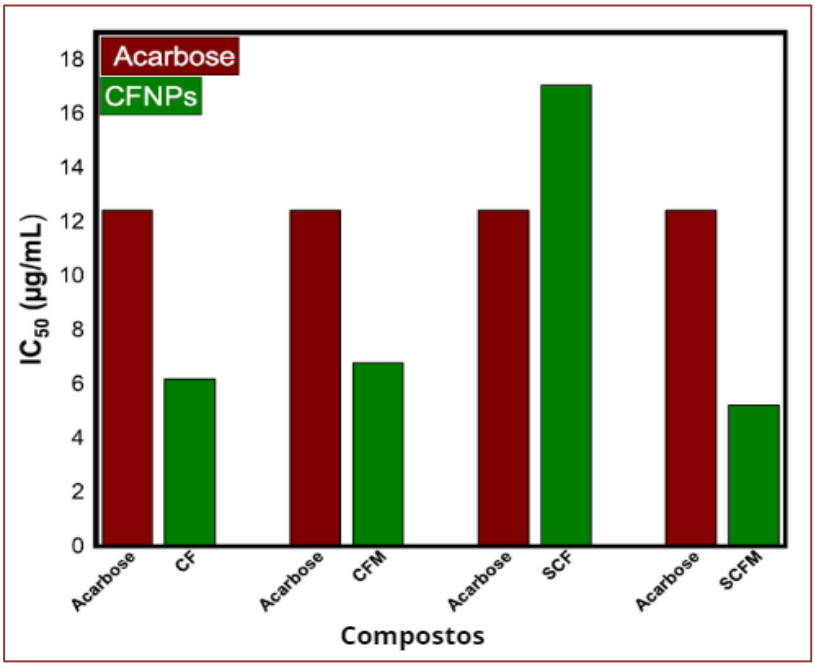
Figura 17 - Atividade anticancerígena das nanoparticulas $CoFe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$@Ag via ensaio MTT.



Fonte: Punyasamudram *et al.,* 2024.

As nanopartículas de $CoFe_2O_4$ (CF), CF dopada com Mn ($CoMnFe_2O_4$ - CFM) e $CoMnFe_2O_4$ @S.C (SCFM) também foram avaliadas em relação à diabetes. Estas CFNPs apresentaram boa inibição da enzima digestiva α-glicosidase com concentrações muito baixas de 6 µg/mL, 5 µg/mL e 4 µg/mL em comparação com 12,41 µg/mL de acarbose (controle). A atividade destas nanopartículas contra α-glicosidase, a qual catalisa a liberação de glicose no sangue, é uma indicação positiva para tratamento de diabetes. Em comparação à acarbose, a amostra SCF mostrou concentração ligeiramente superior a 16 µg/mL. A Figura 18 apresenta o IC_{50} (concentração necessária para inibir 50% da atividade enzimática) para estas amostras. Portanto, além da ferrita de cobalto, as formulações com a presença de extrato de *Swertia chirata* também demonstraram potencial atividade antidiabética (Fiaz *et al.,* 2023).

Figura 18 - Valores IC_{50} de α-glucosidase acarbose para as amostras à base de $CoFe_2O_4$.



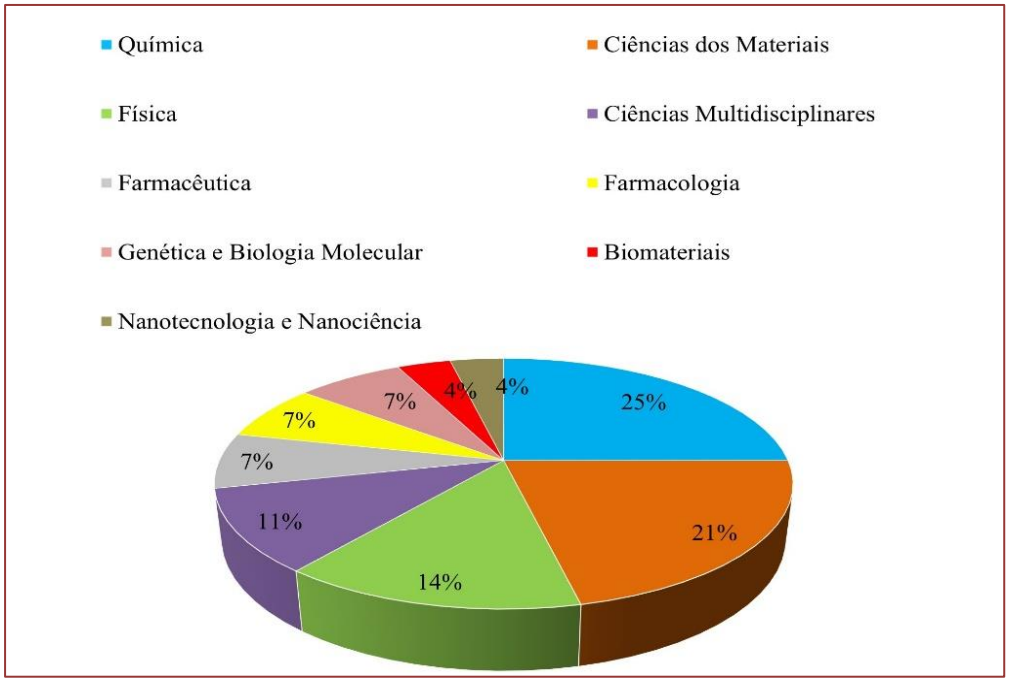
Fonte: Fiaz *et al.*, 2023.

Através do estudo bibliométrico, as áreas de conhecimento que possuem vínculos com o tópico abordado e sua natureza interdisciplinar foram identificadas. Portanto, a Figura 19 exibe as principais áreas em que os artigos publicados se concentram, evidenciando a química, ciência dos materiais e física com 25%, 21% e 14%, respectivamente. Isso se deve à relação que essas áreas possuem com as propriedades químicas e físicas dos materiais, o que contribui para que as áreas de química e física também sejam consideradas vertentes em pesquisas sobre as ferritas de cobalto, tornando a temática uma área multidisciplinar, como no caso da ciência dos materiais. É importante ressaltar que, por se tratar do estudo de uma síntese, áreas como farmacologia, biomateriais, farmacêutica, genética e biologia molecular também estão incluídas nos artigos estudados. Um exemplo disso é a investigação sobre o mecanismo molecular de nanopartículas de ferrita de cobalto dopadas com níquel que induziram apoptose (“morte celular programada”) em células MCF-7 de câncer de mama, de autoria

de Baskar *et al.* (2022), publicada na *Environmental Toxicology*. Nesse estudo, constatou-se que as nanopartículas de ferrita de cobalto dopadas com níquel sintetizadas com extrato de coentro (*Coriandrum sativum*) por precipitação mostraram citotoxicidade eficaz em células MCF-7 em comparação com outras nanoestruturas de óxido metálico. Isso, mais uma vez, corrobora o fato de que esse estudo pode abranger diferentes campos de pesquisa.

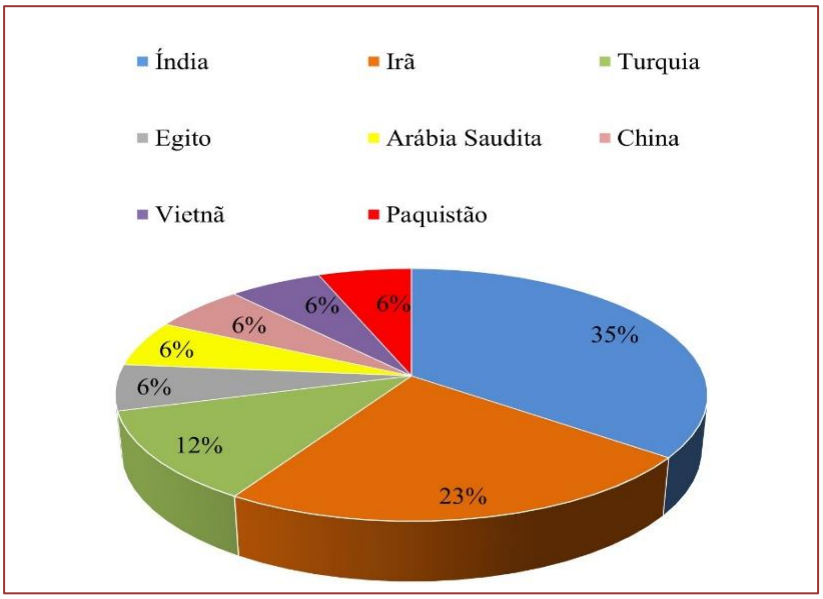
Analisando os dados dos países que publicam (Figura 20) sobre a síntese verde da ferrita de cobalto, pode-se destacar que Índia e Irã são responsáveis pela grande parte das pesquisas, uma vez que somados (58%) apresentam mais da metade das publicações. Na sequência, a Turquia apresenta a maior quantidade (12%) de artigos, seguido de países como a Arábia Saudita, Egito, China, Paquistão e Vietnã, que apresentam uma pequena contribuição para as pesquisas reportadas. O Brasil, mesmo sendo um país que apresenta uma grande diversidade em matérias-primas naturais que podem ser usadas em síntese verde, não está representado dentro dessa configuração.

Figura 19 - Distribuição de artigos publicados por área.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 20 - Distribuição de artigos por país.



Fonte: Autor, 2024.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O presente estudo indica que existe um grande interesse por rotas químicas sustentáveis, considerando o amplo número de publicações sobre o tema síntese verde. Entretanto, ao restringir a pesquisa em busca de resultados que evidenciem as propriedades antibacterianas de nanopartículas de $CoFe_2O_4$ produzidas por síntese verde, é possível observar que existem poucas publicações a respeito.
- Em termos de países que lideram o *ranking* de publicações, estes são todos orientais, evidenciando que essa produção científica ainda é pouco explorada em outras regiões. Nanopartículas de $CoFe_2O_4$ (pura ou dopada) desenvolvidas por rotas verdes demonstram eficiência na atividade antibacteriana contra um considerável espectro de bactérias patogênicas, o que sugere que estas nanopartículas são uma oportunidade promissora para aplicações antibacterianas.
- A produção deste nanomaterial e de outras formulações sintetizadas pela rota verde pode trazer avanços significativos para os mais diversos campos de aplicação das ferritas.

REFERÊNCIAS

[1] AMEEN, F.; MAJRASHI, N. Recent trends in the use of cobalt ferrite nanoparticles as an antimicrobial agent for disability infections: A review. **Inorganic Chemistry Communications**, 156, 111187, 2023.

[2] ANSARI, M. A. *et al.* Bioinspired ferromagnetic $CoFe_2O_4$ nanoparticles: Potential pharmaceutical and medical applications. **Nanotechnology Reviews,** v.12, p. 1-19, 2023.

[3] BASKAR, S. *et al.* Green synthesized nickel-doped cobalt ferrite nanoparticles exhibit antibacterial activity and induce reactive oxygen species-mediated apoptosis in MCF-7 breast cancer cells through inhibition of PI_3K/Akt/mTOR pathway. **Environmental Toxicology**, v.37, p. 2877-2888, 2022.

[4] DEHGHANI, F. *et al.* Magnetic graphite-ODA@ $CoFe_2O_4$: attempting to produce and characterize the development of an innovative nanocomposite to investigate its antimicrobial properties**. Applied Physics A**, p. 1-13, 2022.

[5] EL-SAYED, E. S. R.; ABDELHAKIM, H. K.; ZAKARIA, Z. Extracellular biosynthesis of cobalt ferrite nanoparticles by Monascus purpureus and their antioxidant, anticancer and antimicrobial activities: Yield enhancement by gamma irradiation. **Materials Science & Engineering: C,** v. 107, p. 110318, 2020.

[6] FIAZ, S. *et al*. Green synthesis of cobalt ferrite and Mn doped cobalt ferrite nanoparticles: Anticancer, antidiabetic and antibacterial studies. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 80, p. 127292, 2023.

[7] HOA, L. T. N. *et al.* Silver decorated on cobalt ferrite nanoparticles as a reusable multifunctional catalyst for water treatment applications in non-radiation conditions. **RSC Advances,** v.13, p. 24554-24564, 2023.

[8] HUIFANG, H. *et al.* Novel green synthesis and antioxidant, cytotoxicity, antimicrobial, antidiabetic, anticholinergics, and wound healing properties of cobalt nanoparticles containing Ziziphora clinopodioides Lam leaves extract**. Scientific Reports**, v.10, p. 1-19, 2020.

[9] KOBYLINSKA, N. *et al.* Biosynthesis of magnetite and cobalt ferrite nanoparticles using extracts of "hairy" roots: preparation, characterization, estimation for environmental remediation and biological application. **RSC Advances**, v. 11, n. 43, p. 26974–26987, 2021.

[10] MAHAJAN, P. *et al.* Green synthesized (Ocimum sanctum and Allium sativum) Ag-doped cobalt ferrite nanoparticles for antibacterial application. **Vacuum**, v.161, p. 389-397, 2019.

[11] MAKSOUD, M. I. A. A. *et al.* Antibacterial, antibiofilm, and photocatalytic activities of metals-substituted spinel cobalt ferrite nanoparticles. **Microbial Pathogenesis**, v.127, p. 144-158, 2019.

[12] MANJU, B. G.; RAJI, P. Green synthesis of nickel–copper mixed ferrite nanoparticles: Structural, optical, magnetic, electrochemical and antibacterial studies. **Journal of Electronic Materials**, v. 48, n. 12, p. 7710–7720, 2019.

[13] MEIDANCHI, A. Cobalt ferrite nanoparticles supported on reduced graphene oxide sheets: optical, magnetic and magneto-antibacterial studies. **Nanotechnology,** v.31, p. 1-11, 2020.

[14] NAGHIZADEH, A. *et al.* Novel $CoFe_2O_4$@ZnO-CeO_2 ternary nanocomposite: Sonochemical green synthesis using Crataegus microphylla extract, characterization and their application in catalytic and antibacterial activities. **Bioorganic Chemistry**, v.103, p. 1-11, 2020.

[15] NAIK, M. M. *et al.* Multifunctional properties of microwave-assisted bioengineered nickel doped cobalt ferrite nanoparticles. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v.91, p. 578-595, 2019a.

[16] NAIK, M. M. *et al.* Green synthesis of zinc doped cobalt ferrite nanoparticles: Structural, optical, photocatalytic and antibacterial studies. **Nano-Structures & Nano-Objects,** v.19, p. 1-13, 2019b.

[17] **ONU Brasil (Nações Unidas no Brasil)**. Relatório global de resistência antimicrobiana e sistema de vigilância de uso Antimicrobiano. 2022. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br**. Acesso em: 23 de outubro de 2024.**

[18] PUNYASAMUDRAM, S. *et al.* Multifunctional characteristics of biosynthesized $CoFe_2O_4$@Ag nanocomposite by photocatalytic, antibacterial and cytotoxic applications. **Chemosphere**, v. 349, p. 140892, 2024.

[19] RUBIO, F. M. **Influência da ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) na formação da fase β em compósitos magnetoelétricos à base de Poli (Fluoreto de Vinilideno)(PVDF)**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados-MS, p.43, 2014.

[20] SHAHRIARINOUR, M. *et al.* Antibacterial Properties of Cobalt Ferrite Magnetic Nanoparticles Loaded on Date Palm Pollen Against Multidrug-Resistant Bacteria. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v.48, p. 7315-7322, 2023.

[21] SUNDRAM, S.; BASKAR, S.; SUBRAMANIAN, A. Green synthesized nickel doped cobalt ferrite nanoparticles exhibit antibacterial activity and induce reactive oxygen species mediated apoptosis in MCF-7 breast cancer cells through inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway. **Environmental Toxicology**, v. 37, n. 12, p. 2877-2888, 202

Capítulo 8

Uso da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ para aplicação como biomaterial

Luciano Nascimento
Danyelle Garcia Guedes
Elvia Leal
José Adeilton de Carvalho Filho
Gleydis Manalig Pereira Dantas
Meirilany Rozeno Costa
Adriano Lima da Silva
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Resumo: Neste trabalho, a liga amorfa foi $Fe_{75}Cu_{15}B10$ foi sintetizada por meio do método de moagem de alta energia (MAE). A caracterização foi realizada utilizando difração de raios-X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) com espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS), análise textural (BET) e medidas magnéticas (VSM). Observou-se que o tempo de moagem fixado em 40 horas, aliado à adição dos elementos Cu e B, influenciou significativamente o comportamento microestrutural, magnético e mecânico da liga, destacando-se como um material com propriedades promissoras. Adicionalmente, o perfil citotóxico revelou que, em concentrações seguras onde a viabilidade celular foi superior a 70%, a liga apresentou potencial promissor para aplicação como biomaterial metálico temporário em implantes ortopédicos.

Palavras-chave: Liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B10$. Biomaterial. Moagem mecânica.

1. INTRODUÇÃO

Desde seu desenvolvimento em 1960 por Pol Duwez, processou uma liga amorfa binária $Au_{80}Si_{20}$ por melt spinning com propriedades físicas e químicas diferenciadas das ligas cristalinas convencionais (Lin *et al.*, 2022). As ligas amorfas à base de Fe, com alta resistência à corrosão, e excelentes propriedades magnéticas e mecânicas, têm atraído muita atenção (Shi *et al.*, 2021).

Devido estas propriedades, as ligas amorfas têm atraído cada vez mais atenção para desenvolvimento de novos materiais biomédicos temporários comparados com o aço inoxidável biomédico 316L (SS 316L), ligas Ti6Al4V, e outras ligas nanocristalinas à base de Ti, Zr, Cu e Fe que exibem muitas propriedades incluindo excelente biocompatibilidade, resistência à corrosão, resistência ao desgaste, alta resistência, baixo módulo de Young e capacidades de processamento (Büyüksağiş e Çiftçi, 2020; Atmaca *et al.*, 2023).

Recentemente, pesquisadores estudaram o sistema de liga Fe-Cr-Mo-P-B e os resultados mostram que a aplicação desta liga em implantes biomédicos temporários tem alcançado excelentes resultados em termos de resistência à biocorrosão e biocompatibilidade (Akinwekomi e Akhtar, 2023). Geralmente, pouquíssimos estudos sobre os elementos Fe, Co, Mn, Cu, Nb e alguns elementos metaloides e terras raras precisam ser adicionados à liga Fe–Cr–Mo–P–B para aumentar a fase amorfa e aumentar a capacidade de resistência à corrosão e oxidação (Zhao *et al.*, 2019). Entretanto, Fe, Co e Mn podem induzir reações adversas no corpo em implantes de longo prazo, e até agora também não se sabe se alguns elementos de terras raras são seguros para o corpo humano (Haider *et al.*, 2024).

Portanto, é de grande interesse desenvolver novas ligas amorfas à base de Fe para aplicação em implantes biomédicos temporários (Schinhammer *et al.*, 2010). A adição simultânea de metaloides (B, Si, Ge, C e P) como elemento de liga durante o processamento, pois otimiza as propriedades mecânicas, magnéticas e aumenta a estabilidade térmica (Drăgănescu *et al.*, 2021). Assim, esta pesquisa tem como objetivo investigar as propriedades magnéticas, mecânicas e estruturais da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ para aplicação como um biomaterial temporário.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIOMATERIAIS

O crescente aumento na expectativa de vida da sociedade resultou numa igual demanda e procura por biomateriais, naturais ou sintéticos, que utilizados em contato com sistemas biológicos, têm a finalidade de reparar ou substituir tecidos, órgãos ou funções do organismo, com o objetivo de manter ou melhorar a qualidade de vida do paciente.

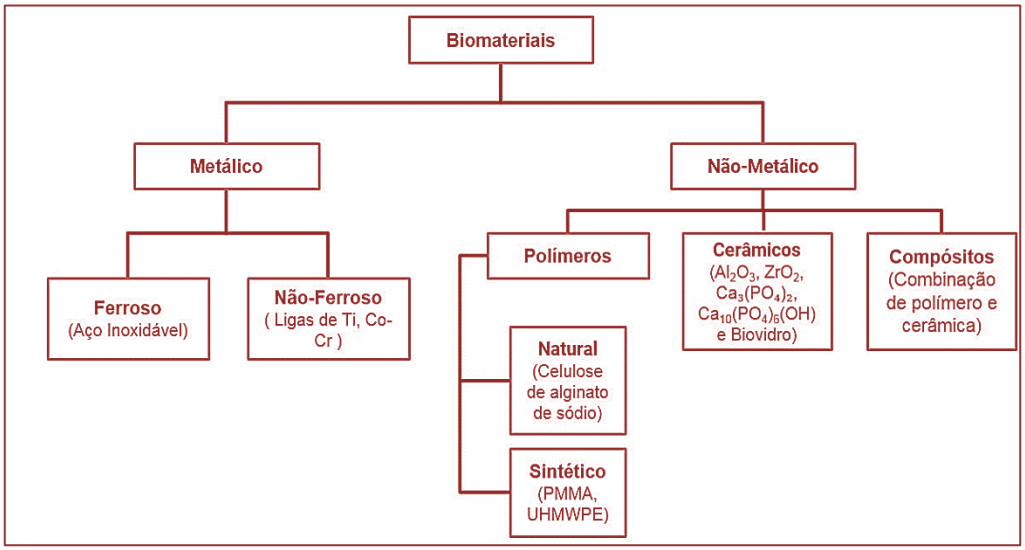
Há mais de um século, guiados por estudos clínicos e experimentais, os pesquisadores procuram desenvolver materiais com características adequadas para substituição total ou parcial dos tecidos biológicos presentes no corpo humano por ocasião de alguma patologia ou traumatismos diversos, visando assim uma recomposição mais próxima possível da ideal para anatomia e a função da região comprometida. Os primeiros registros de algumas ilustrações da utilização de biomateriais que datam de 4.000 a.C., conforme ilustrado na Figura 1; entretanto, os usos desses materiais estavam fadados ao insucesso, uma vez que eram desconhecidos os conceitos relativos aos materiais, a infecção e as reações biológicas.

Figura 1 – Ilustrações da utilização de biomateriais que datam de 4.000 a.C (Todros *et al.*, 2021).

Os biomateriais devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos biológicos do hospedeiro, de modo a estimular uma resposta adequada (Nugud *et al.*, 2022). Sendo assim, para se utilizar um biomaterial com segurança, deve apresentar três características básicas: *(i)* biocompatibilidade, não induzindo respostas biológicas adversas, como reações alérgicas e inflamatórias não toleráveis pelo organismo; *(ii)* alta osteocondutividade, estimulando o crescimento de células ósseas; e *(iii)* bioatividade, que é a capacidade do material em se unir com tecido biológico (Farag, 2023).

Na classificação geral, os biomateriais são listados de acordo com sua origem, sendo biológicos (autógenos – paciente; alógenos – doador; ou xenógenos - animal) e sintéticos/aloplásticos (metais, cerâmicos e polímeros), ou através da resposta induzida ao meio biológico (bioinertes, bioabsorvíveis e bioativos) (Sharma *et al.*, 2019). Um breve resumo da classificação dos biomateriais pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 – Classificação geral dos biomateriais (Roy, 2020).



Os materiais bioativos possuem a capacidade de interagir intimamente com o tecido biológico (bioadesão), diferentemente dos materiais bioinertes e bioabsorvíveis, sendo que a reação causada por esses materiais ocorre através da formação de uma camada de tecido fibroso entre o material e o tecido biológico, tornando impossível a interação direta entre o material e tecido, o que poderia levar à instabilidade e falha (Zhang *et al.*, 2023).

Os biomateriais foram introduzidos há mais de um século na área da saúde, com o objetivo de entrar em contato com células e tecidos biológicos para estimulá-los, reparálos ou substituí-los, de forma a manter a atividade e a integralidade em situações de doenças infecciosas, genéticas ou de traumas (Varghese *et al.*, 2024). Os biomateriais podem ser produzidos a partir de diversas matérias-primas e são classificados quanto a sua composição química, natureza, escala, interação com o tecido humano, quanto as suas propriedades de biodegradação, aspecto estrutural, aplicação, local de aplicação e tempo de contato com o tecido corporal, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação dos biomateriais conforme a sua composição (Serrano-Aroca e Pous-Serrano, 2021).

Classificação	Biomateriais
Composição Química	Materiais cerâmicos, poliméricos, metálicos e compósitos.
Natureza	Natural, materiais semissintéticos, sintéticos e híbridos.
Escala	Nano, micro e macro.
Interação com tecido humano	Reabsorvível, não reabsorvível, bioativo, bioinerte.
Propriedades de biodegradabilidade	Biodegradável e biestável
Aspecto estrutural	Poroso e não poroso
Aplicação	Diagnóstico, terapêutico, restaurador, preventivo e regenerativo
Local de aplicação	Intracorpóreo e extracorpóreo
Tempo de contato com o tecido corporal	Variável

A evolução dos biomateriais é caracterizada por três diferentes gerações. A primeira geração corresponde aos materiais bioinertes, cujo foco é o de não provocar reação de corpo estranho no organismo (Cha *et al.*, 2019). Já a segunda geração engloba os materiais bioativos e biodegradáveis, e a terceira geração os materiais responsáveis por estimular respostas celulares em níveis moleculares (biomimética e na engenharia de tecidos) (Guo *et al.*, 2021). É importante ressaltar que essas gerações são interpretadas de forma conceitual e não cronológica, uma vez que cada uma delas representa evolução nas propriedades dos materiais, ou seja, os biomateriais desenvolvidos atualmente não necessariamente pertencem a terceira geração (Yuan *et al.,* 2024).

2.2. BIOMATERIAIS METÁLICOS

Os biomateriais metálicos tradicionais cristalinos têm sido tipicamente usados em aplicações médicas, como implantes ortopédicos, aplicações dentárias, *stents* intravasculares e válvulas cardíacas protéticas (Wei *et al.*, 2020). Os biomateriais metálicos são usados em dispositivos médicos no corpo humano mais do que qualquer outra família de materiais (Shi *et al.*, 2021). A biocompatibilidade é um requisito essencial de um biomaterial (Marin *et al.*, 2020). Um material biocompatível executa com uma resposta apropriada do hospedeiro (ou seja, interrupção mínima da função normal do corpo) em uma aplicação específica (Cecen *et al.*, 2024). A resistência à corrosão de um material de implante afeta sua funcionalidade e durabilidade e é um fator primordial que governa a biocompatibilidade (Nagay *et al.*, 2022). O paradigma fundamental dos biomateriais metálicos, que sejam biodegradáveis, mais resistente à corrosão e biocompatível. Um biomaterial biodegradável ideal deve ter produtos de degradação que não sejam tóxicos e sejam facilmente metabolizados e eliminados do corpo (Xiang *et al.*, 2024). Os biomateriais metálicos são utilizados devido à sua excelente condutividade térmica, resistência à corrosão e ótimas propriedades mecânicas (Mahajan *et al.*, 2023).

2.3. LIGAS AMORFAS

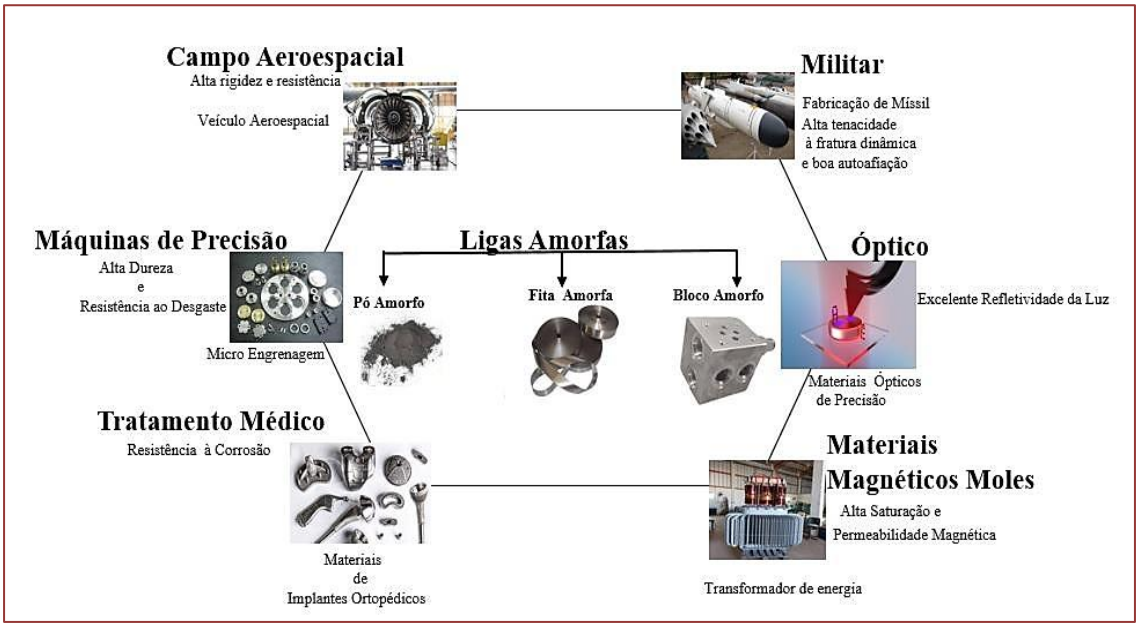
Desde que Paul Duwez obteve a primeira liga amorfa do tipo $Au_{75}Si_{25}$ por resfriamento rápido pela primeira vez em 1960, várias composições de ligas amorfas e vidros metálicos a granel atraíram grande atenção por causa de suas propriedades únicas e aplicações potenciais em vários setores de pesquisa e indústria (Dong *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2022).

Em geral, as ligas amorfas à base de ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu) e níquel (Ni) exibe excelentes características como ótimas propriedades mecânicas, físicas e químicas superiores, por exemplo, alta resistência, alta elasticidade, propriedades magnéticas suaves únicas, temperatura abaixo da temperatura de Curie, resistência à corrosão e biocompatibilidade, devido à estrutura não cristalina e à falta de defeitos cristalinos, como deslocamentos (Tang *et al.*, 2019; Shao *et al.*, 2020).

De modo geral, as ligas amorfas possuem uma ampla gama de aplicações técnicas, como máquinas estruturais e materiais de corte (Mocanu *et al.*, 2018), transdutores e sensores (Hristoforou *et al.*, 2019), materiais ópticos de precisão (Shi e Yao, 2020), núcleos magnéticos e componentes indutivos nos transformadores de alta tensão (Liu *et al.*, 2019; Battal *et al.*, 2021), materiais resistentes à corrosão (Han *et al.*, 2021), materiais de armazenamento de hidrogênio (Han *et al.*, 2022), materiais compósito amorfo/nanocristalino com propriedades multifuncionais que apresentam fases de nanocompósitos (Bag *et al.*, 2019), materiais de artigos esportivos (Gupta, 2018), biomateriais como implantes ortopédicos (Ford *et al.*, 2019), fios dentário e próteses fixas em aparelhos odontológicos (Jichao *et al.*, 2022).

Na Figura 3 está ilustrado de forma resumida as principais aplicações das ligas amorfas em alguns setores tecnológicos e industriais.

Figura 3 – Principais aplicações de ligas amorfas em setores tecnológicos e industriais (Suryanarayana, 2020).



2.4. LIGA AMORFA À BASE DE FERRO

As ligas amorfas à base de Fe apresentam características únicas que não são exibidas em ligas cristalinas equivalentes em termos de composição, pois podem garantir ótima combinação de propriedades tribológicas e eletroquímicas (Parra e Bolivar, 2019). Tais propriedades estão associadas à grande homogeneidade química e à ausência de imperfeições cristalográficas, tais como contornos de grãos, segundas fases ou inclusões, discordâncias ou segregações (Noorbakhsh *et al.*, 2024). Imperfeições microestruturais são suscetíveis ao ataque químico preferencial e levam a formação de filmes passivos menos estáveis e menos uniformes que os filmes formados na superfície de ligas amorfas (Xin, 2024). As primeiras ligas amorfas à base de Fe foram processadas em meados da década de 1970, utilizando a liga uma binária Fe-B processada por melt-spinning (Jia *et al.*, 2022). Somente em 1995 foi relatada a primeira liga amorfa de grande volume à base de Fe, isto é, ($Fe_{72}Al_5Ga_2P_{11}C_6B_4$), desde então, diversos estudos foram desenvolvidos à fim de aprimorar suas propriedades físicas e químicas para aplicações industriais, biológicas e comerciais (Mitrović *et al.*, 2012).

2.5. METALOIDES

A adição de elementos metalóides (B, Si, Ge, C e P) desempenha um papel importante na estabilidade térmica, propriedades mecânicas e magnéticas das ligas amorfas à base de Fe. Os metaloides adicionados são, tipicamente, B, Si, Ge, C e P, com quantidade total de aproximadamente 20% at. (Pei *et al*., 2012). Os metaloides são usados por possuírem sítios intersticiais de rede dentro da estrutura cristalina e, ter um pequeno raio atômico (Lu, 2024). Além disso, ocupam buracos relativamente grandes na estrutura densamente compactada dos átomos metálicos e transferem elétrons para a banda d não preenchida do metal de transição, resultando em uma diminuição no momento magnético (Nascimento *et al*., 2022). Eles também previnem a cristalização de uma liga quando a liga é resfriada no estado líquido para o estado sólido. Entretanto, apesar do aumento da quantidade de elementos metaloide facilitar a amorfização, como também aumenta a entalpia negativa do elemento de liga melhorando muito a resistência ao desgaste em diversas aplicações industriais e biomédicas (Lu *et al.*, 2024).

2.6. MÉTODOS DE PROCESSAMENTOS DE LIGAS AMORFAS

As ligas amorfas são produzidas por meio de uma série de técnicas metalúrgicas dentre essas pode-se citar melt-spinning (Xie *et al.*, 2024), conformação por spray (Cao *et al.*, 2020), eletrodeposição (Liu *et al.*, 2021) e moagem de alta energia (MAE) (Adelfar *et al.*, 2020).

Dentre os métodos citados, a moagem de alta energia (MAE) é uma técnica de processamento no estado sólido, onde os produtos se formam pela transferência de energia proveniente de colisões mecânicas num moinho de alta energia. Na formação de ligas, as partículas dos pós são submetidas repetidamente a um processo de fratura e solda até formarem as fases finais (Suryanarayana, 2022). A vantagem desse método é que a capacidade de produção de pó é grande e os parâmetros do processo são fáceis de controlar. Portanto, é um método adequado para fins industriais e de pesquisa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi dividido em duas etapas: a primeira etapa foi a preparação de liga de referência utilizando o método de moagem mecânica, conforme a composição estequiométrica a partir da composição nominal da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ (% em peso atômico), foi obtida a partir de misturas de pós cristalinos puros de Fe, Cu e B (> 99, 99% de pureza). Os pós de Fe, Cu e B foram adquiridos da Êxodo Científica−LTDA /Brasil. A segunda etapa do trabalho foi o processamento por moagem de alta energia (MAE), para obtenção da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$. Os pós de Fe, Cu e B foram adquiridos da Êxodo Científica−LTDA /Brasil. Usou-se um moinho de bola planetário Frittsch Pulverisette 5 com jarras cilíndricas de 77 mm de diâmetro por 80 mm de altura e esferas (20, 12 e 7 mm de diâmetro), sendo ambas, esferas e jarras em tungstênio. A carga da mistura de pós foi mantida em 20 g, para todos os ensaios, assim como a relação bola-pó em peso de 10:1. A velocidade de ensaios adotada foi 350 rpm e o tempo de moagem, foi de 40 h. Finalmente, utilizou-se álcool etílico (2 mL) como meio de moagem e atmosfera de argônio. O álcool etílico foi usado como agente controlador do processo e adicionado antes da moagem, a fim de reduzir a aderência das partículas dúcteis do aço inox nas esferas e paredes das jarras.

3.1. CARACTERIZAÇÕES

3.1.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

A análise da estrutura amorfa foi realizada por difração de raios X (DRX) com difratômetro BRUKER, modelo D2 Phaser, radiação de cobre CuK_{α} (λ= 1, 54056 Å), passo de varredura de 0, 016ºs^{-1} e tempo de 5s, a 40 kV e 30 mA em um 2θ variando de 10º ≤ 2θ ≤ 80º.

3.1.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X (MEV/EDS)

O aspecto morfológico da amostra do pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ foi examinado por microscópio eletrônico de varredura-e espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) em um equipamento VEGA 3, TESCAN, operando a 30 kV usando uma ampliação de 100 kx para verificar a eficiência da interdifusão dos elementos químicos presentes no pó da liga amorfa.

3.1.3. ANÁLISE TEXTURAL (AT)

A determinação da área superficial das amostras foi realizada pelo método de adsorção/dessorção de nitrogênio desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller (BET) visando determinar a área superficial específica dos produtos obtidos da reação de combustão. A partir de isotermas de adsorção de gases sobre as amostras é possível obter as características de suas texturas. Foi utilizado um equipamento modelo NOVA 3200. Esta técnica também foi usada para determinar o tamanho médio de aglomerados de partículas (diâmetro esférico equivalente) por meio da Equação 1 seguinte:

$$D_{BET} = \frac{6}{\rho \cdot S_{BET}} \qquad (1)$$

onde D_{BET} é o diâmetro (nm), S_{BET} é a área de superfície determinada pelo método BET (m^2/g), ρ é a densidade teórica (g/cm^3), e 6 é um fator teórico implementado para partículas esféricas sem rugosidade.

3.1.4. ENSAIO MECÂNICO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO

O ensaio mecânico de compressão foi realizado em uma máquina universal de ensaios INSTRON, modelo 3366, com uma célula de carga de 10kN e taxa de deformação constante de 1,0 mm/min, obtendo o limito máximo de resistência e o percentual de deformação máxima para a carga utilizada. Para o ensaio, da amostra foi medida a altura e diâmetro, sendo assim verificado com um auxílio de um paquímetro digital DIGIMESS 100-174BL. A resistência à compressão foi calculada a partir da divisão entre a tensão máxima e a área original. Foram testadas cinco amostras e o valor médio do módulo de elasticidade (módulo de Young) com seu respectivo desvio foi calculado para até 20% de deformação compressiva- ε (%). Neste trabalho serão considerados apenas os valores de esforço compressivo-σ (MPa), e a deformação compressiva- ε (%).

3.1.5. MEDIDAS MAGNÉTICAS (MM)

A medida magnética da amostra foi realizada num equipamento magnetômetro de amostra vibrante (VSM) em temperatura ambiente, utilizando um Magnetômetro de Amostra Vibrante (VSM) Microsense modelo EZ 7 submetido a campos magnéticos de até 2,7 T (isto é, 27 kOe) e em temperaturas na faixa de temperatura de 77 K a 1000 K. As características magnéticas tais como: magnetização de saturação (M_s), magnetização remanente (M_r) e campo coercitivo (H_c) foram obtidos a partir dos loops (curvas) das histereses, observando-se o comportamento das curvas nas proximidades da origem do plano cartesiano.

3.1.6. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE POR MTT

O ensaio de avaliação da viabilidade celular do IBS foi realizado de acordo com a norma BS EN ISO 10993-5: 2009 (Biological evaluation of medical devices –Part5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods) (BS EN ISOIso, 2009), através da determinação da porcentagem da viabilidade celular, utilizando o método de redução do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], que estabelece uma correlação entre a atividade metabólica celular e o número de células viáveis em cultura in vitro. Este teste baseia-se na redução de sal amarelo de Tetrazólio, o MTT, por desidrogenases celulares para cristais azul/violeta de Formazan.

Para avaliação da citotoxicidade do hidrogel e do IBS, foi utilizada a linhagem celular de fibroblastos L929 (ATCC NCTC clone 929) obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro - BCRJ cultivadas em meio de cultura RPMI (RPMI 1640 Medium, Gibco® - Invitrogen Corporation, Grad Island, USA) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (Gibco®, by Life Technologies) e 1% de Antibiótico -Antimicótico (Gibco®, by Life Technologies), mantidas em estufas de CO_2, em atmosfera de 5% e, a 37ºC. As células utilizadas neste experimento seguiram as recomendações de utilização para o teste de citotoxicidade in vitro que constam na norma BS EN ISO 10993-5: 2009.

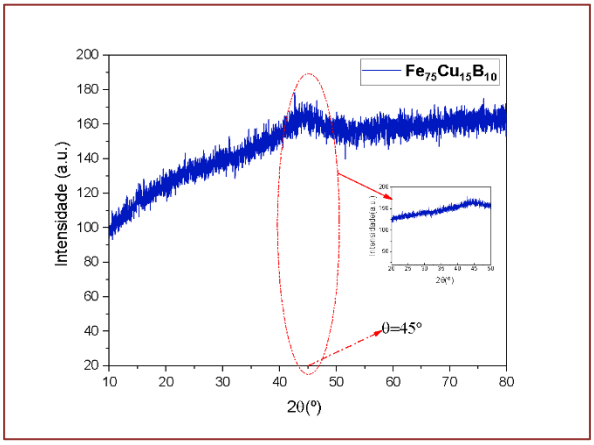
Foi utilizada uma concentração celular de 5 10^5 células/mL em meio de cultura RPMI, e adicionados 100 µL por poço em uma placa de cultura celular de 96 poços. A placa foi transferida para a estufa de CO_2 (5%) a 37ºC e incubada por 24hs. Após este período, o meio de cultura é aspirado de todos os poços, e posteriormente são adicionados 170 µL de meio de cultura RPMI e 30 µL da amostra (extrato) em cada poço. A obtenção dos extratos utilizados no ensaio foi de acordo com a norma ISO 10993-12: 2012 (Biological evaluation of medical devices –Part 12: Sample preparation and reference materials) (ISOIso, 2012). A placa foi incubada novamente em estufa de CO_2 (5%) a 37ºC por 24h. Após as 24h, o meio de cultura é aspirado de todos os poços e foram adicionados 100 µL de solução de MTT (1mg/mL) em PBS (Tampão fosfato-salino).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DA LIGA AMORFA

O difratogramas de raios-X da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ obtida por MAE é ilustrado na Figura 4.

Figura 4 – Difratogramas de raios-X da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ obtida por MAE

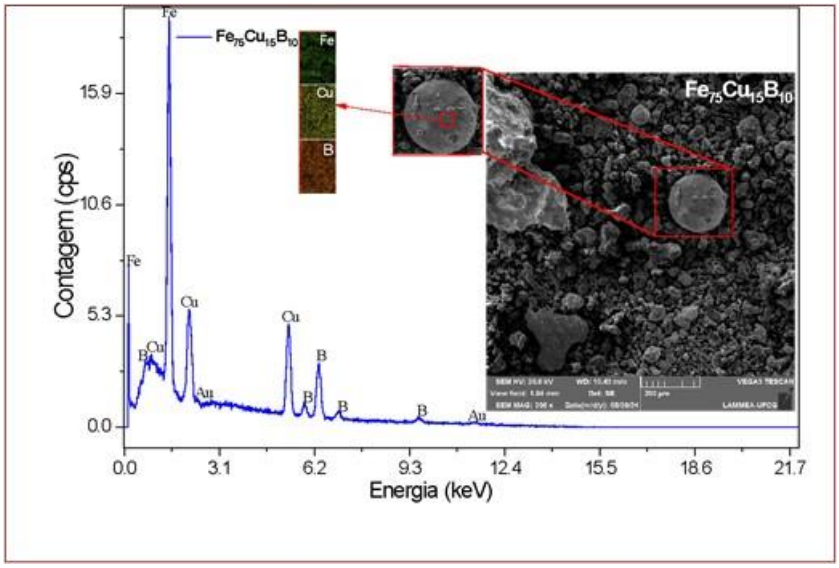


De acordo com o difratograma da liga $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$, exibe apenas um halo típico de estrutura amorfa, com centro em 2θ =45º, e nenhum pico de difração agudo correspondente às fases cristalinas aparece, como mostrado na parte central dentro do círculo pontilhado vermelho. Este resultado confirma a eficácia da MAE e da elaboração da composição estequiométrica para ligas amorfas baseadas em Fe. Os pesquisadores Binh *et al.* (2022) observaram um pico difuso em formato de halo para vidros metálicos Al-Fe-Ni via moagem mecânica (MAE) e sua consolidação, corroborando com a ausência de fases cristalinas no DRX da liga amorfa estudada (ver Figura 3).

4.2. PERFIL MORFOLÓGICO DA LIGA AMORFA

A Figura 5 mostra a micrografia SEM/EDS da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$.

Figura 5 – Micrografia do MEV/EDS da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ obtida por MAE.



A morfologia do pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ na Figura 6, exibe uma morfologia em forma esférica com estrutura do tipo cebola, com uma magnificação de 200x e, tamanho de partícula típico de 200 µm.

Em geral, devido adição dos elementos Cu e B influenciaram fortemente na microestrutura e nas propriedades magnéticas de ligas amorfas e nanocristalinas à base

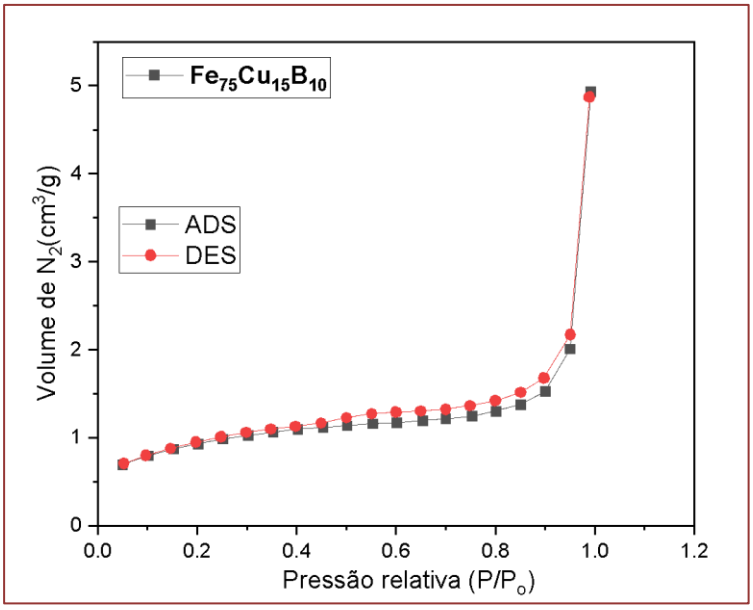
de Fe no qual pode-se observar morfologias pequenas partículas esféricas espalhadas na micrografia do MEV, e uma partícula esférica bem nítida do qual originou-se devido aos fortes efeitos de deformação plástica durante o processo de moagem de 20 h.

A análise EDS da liga $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ da Figura 4 mostra os picos intensos dos elementos Fe, Cu e B estão distribuídos na superfície do pó. Os elementos do pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ foram particionados em fases baseadas em Fe dependendo de seu limite de solubilidade e de acordo com sua energia livre de Gibbs molar parcial de mistura, pode se complexar formando de óxido de ferro são estáveis: Fe_2O_3 e Fe_3O_4, CuO e B_2O_3 formados durante a moagem mecânica (Nascimento *et al.*, 2024).

4.3. CURVAS DE ADSORÇÃO E DESSORÇÃO PARA A LIGA AMORFA

Na Figura 6 encontra-se ilustrado os *loops* de histerese das linhas nas cores preta e vermelha representam as curvas de adsorção (ADS) e dessorção (DES) de N_2 como resultado da caracterização textural da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ obtida por MAE.

Figura 6 – Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ obtida por MAE.

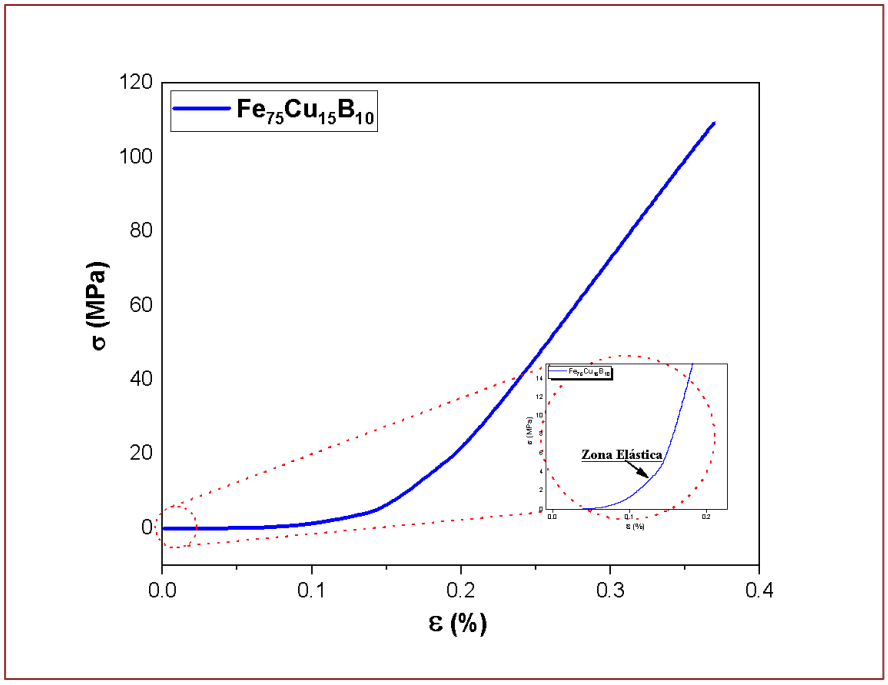


A liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ apresenta estrutura de superfície com perfil da curva isoterma de adsorção, que de acordo com a IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry, se enquadram no tipo V (Kaneko e Otsuka, 2020) e, uns loops de histerese do tipo 3 (H3) sugerindo uma característica de material mesoporoso (materiais com poros variando de 10-250 Å) e uma estrutura de arranjo bem ordenada e diferentes geometrias de poros (Liu *et al.*, 2024).

4.5. RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO DA LIGA AMORFA

A curva de tensão-deformação da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$, que é sinterizada por moagem de alta energia (MAE) e então testada compressivamente em temperatura ambiente, conforme mostrada na Figura 7.

Figura 7 – Curva de histerese magnéticas (M x H) da amostra de catalisador.

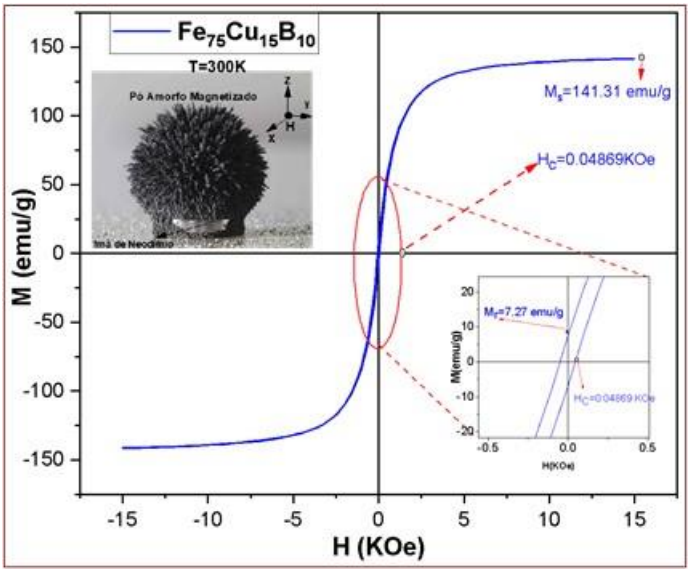


No entanto, liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ tem uma resistência mecânica relativamente baixa, com zinco sólido produzido convencionalmente exibindo uma resistência à tração de 109,11 ± 51,04 e um alto módulo de Young de 259,50 MPa em zona elástica deformada plasticamente em torno de 10%, que é comparável osso cortical humano que tem uma resistência à compressão de 104–121 MPa. A liga de Fe possui uma estratégia eficaz para atingir resistências semelhantes às do osso cortical. A resistência e o módulo de Young são comparáveis aos de outras ligas à base de Fe estudadas anteriormente (Li *et al.*, 2023).

4.6. COMPORTAMENTO MAGNÉTICO DA LIGA AMORFA

Na Figura 8 ilustra o loop de histerese magnéticas (M x H) da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ por MAE.

Figura 8 – Curva de histerese magnéticas (M x H) da liga amorfa $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ via MAE.



A Figura 9 mostra o loop de histerese correspondente da liga $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ em pó preparada a 350 rpm por um tempo de moagem de 20 h. Os valores da coercividade do campo (H_c), magnetização de saturação (M_s) e magnetização remanente (Mr) são em torno de H_c=0,04869 KOe, M_s=141,31 emu/g e de M_r=7,27 emu/g.

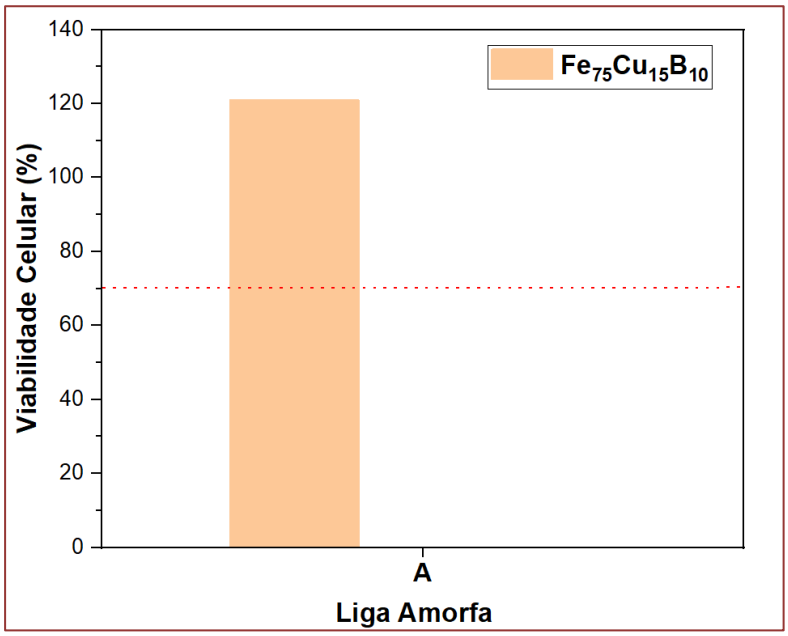
O valor para a razão remanência/saturação (M_r/M_s) em torno de 0,05. $M_r/M_s \ll$ 0,1, indica que as partículas de poeira são multidomínios. A razão remanência/saturação (M_r/M_s) pode ser afetada pela mudança na microestrutura em pós mecanicamente ligados. O valor de M_s foi significativamente diminuído devido à formação de Fe_2O_3 e Fe_3O_4 tendo valores de M_s relativamente baixos em comparação com os valores teóricos para α-Fe (218 emu/g) e γ'-Fe_4N 186 emu/g) (Li *et al.*, 2022).

O valor de Ms para $Fe_{78}Si_9B_{13}$ cristalizado por moagem mecânica foi medido em cerca de 140 emu/g. Além disso, o valor de M_s dos óxidos mistos (Fe_2O_3 e Fe_3O_4) e do óxido único Fe_3O_4 sintetizados pelo processo de moagem de bolas foi medido em cerca de 28 e 39 emu/g, respectivamente. Portanto, pode-se concluir que a degradação do M_s para amostra moída por 20 h é atribuída à formação de Fe_2O_3 e Fe_3O_4 (Ma *et al.*, 2022).

4.7. VIABILIDADE CELULAR DA LIGA AMORFA

A Figura 9 ilustra o dado obtido no ensaio de viabilidade celular por MTT para o pó amorfo representado por A-$Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ por MAE.

Figura 9 – Ilustração do percentual de viabilidade celular obtido para cada amostra analisada (A-$Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$) por MTT.



O resultado apresenta uma viabilidade celular da amostra de 121% ± 37. De acordo com a BS EN ISO 10993-5: 2009, materiais que apresentem uma viabilidade celular acima que 70% é considerado não citotóxico, ou seja, embora que sua variabilidade seja alta e o valor mínimo fique um pouco abaixo do especificado.

Portanto tem-se que a liga amorfa representada pela nomenclaturar A-$Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ processada pela moagem de alta energia (MAE) apresenta uma viabilidade celular acima do índice de citotoxicidade (70%), mesmo descontando a incerteza calculada (U),100 indicando que a liga amorfa (A-$Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$) não exibe um efeito citotóxico em contato com a linhagem celular utilizada.

Este resultado pode ser corroborado pelos estudos realizados por Monfared *et al.,* (2018) quando caracterizaram fitas de liga amorfa cristalizadas e relaxadas de Mg-Zn-Ca para aplicação em biomateriais metálicos temporário.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da técnica de moagem de alta energia (MAE) foi possível obter o pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ por 40 h de moagem para aplicação em biomaterial metálico temporário. Os resultados de DRX confirmaram a obtenção de ligas com estruturas totalmente amorfas. A micrografia do pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ evidenciou uma morfologia esférica de partícula com tamanho de 200 µm.

Os dados relativos à análise textural realizada com ligas amorfas apresentaram perfis de isoterma do tipo IV com loop de histerese do tipo H3, sugerindo uma característica mesoporosa. O pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ apresenta uma resistência à tração de 109,11 ± 51,04 e um alto módulo de Young de 259,50 MPa em zona elástica deformada plasticamente em torno de 10%, que é comparável osso cortical humano que tem uma resistência à compressão de 104–121 MPa.

As ligas amorfas exibiram curvas de histereses com um comportamento típico de materiais ferromagnéticos, que exibem as propriedades magnéticas moles que estão diretamente relacionadas às suas aplicações em biomedicina. O resultado do pó amorfo $Fe_{75}Cu_{15}B_{10}$ apresenta uma viabilidade celular da amostra de 121% ± 37, de acordo com a BS EN ISO 10993-5: 2009, materiais que apresentem uma viabilidade celular acima que 70% é considerado não citotóxico.

REFERÊNCIAS

[1] ADELFAR, R.; MIRZADEH, H.; ATAIE, A.; MALEKAN, M. Crystallization kinetics of mechanically alloyed amorphous Fe-Ti alloys during annealing. ***Advanced Powder Technology 31(8)***, p. 3215-3221, 2020.

[2] AKINWEKOMI, A.; AKHTAR, F. Microstructural, mechanical, and electrochemical characterization of CrMoNbTiZr high-entropy alloy for biomedical application. ***Materials 16(15)***, p. 5320, 2023.

[3] ATMACA, I.; DIKICI, B.; EZIRMIK, K. V.; BULUTSUZ, A. G.; NIINOMI, M. Investigation of corrosion and wear performance of TiNbTaZr/Cr-Mo PVD coatings on 316L SS in Hanks's solution for improved biomedical applications***. Surface and Coatings Technology 473***, p.130021, 2023.

[4] BAG, S.; BAKSI, A.; WANG, D.; KRUK, R.; BENEL, C.; CHELLALI, M. R.; HAHN, H. Combination of pulsed laser ablation and inert gas condensation for the synthesis of nanostructured nanocrystalline, amorphous and composite materials. ***Nanoscale Advances 1(11)***, p. 4513-4521, 2019.

[5] BATTAL, F.; BALCI, S.; SEFA, I. Power electronic transformers: A review. ***Measurement 171***, p. 108848, 2021.

[6] BINH, D. N.; OANH, N. T. H.; VIET, N. H. Al-Fe-Ni Metallic Glasses via Mechanical Alloying and Its Consolidation. ***Applied Sciences 12 (20)***, p. 10561, 2022.

[7] BÜYÜKSAĞIŞ, A.; ÇIFTÇI, N. HAP coatings for biomedical applications: biocompatibility and surface protection against corrosion of Ti, Ti6Al4V and AISI 316L SS. ***Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces 56***, p. 834-843, 2020.

[8] CAO, Q.; HUANG, G.; MA, L.; XING, L. Comparison of a cold-sprayed and plasma-sprayed $Fe_{25}Cr_{20}Mo_1Si$ amorphous alloy coatings on 40Cr substrates. ***Materials and Corrosion 71(11)***, p. 1872-1884, 2020.

[9] CECEN, B.; HASSAN, S.; LI, X.; ZHANG, Y. S. Smart biomaterials in biomedical applications: current advances and possible future directions. ***Macromolecular Bioscience 24(3)***, p. 2200550, 2024.

[10] CHA, G. D.; KANG, D.; LEE, J.; KIM, D. H. Bioresorbable electronic implants: history, materials, fabrication, devices, and clinical applications. ***Advanced healthcare materials 8(11)***, p. 1801660, 2019.

[11] DONG, C.; WANG; Z. J.; ZHANG, S.; WANG, Y. M. Review of structural models for the compositional interpretation of metallic glasses. ***International Materials Reviews 65(5)***, p. 286-296, 2020.

[12] DRĂGĂNESCU, D.; CODREAN, C.; BUZDUGAN, D.; ŞERBAN, V. A.; MITELEA, I. Processing and characterization of $Ni_{63}Cr_{12}Fe_4Si_8B_{13}$ amorphous alloy for the manufacturing of electrical resistances. ***Materials Today: Proceedings 45***, p. 4367-4370, 2021.

[13] FARAG, M. M. Recent trends on biomaterials for tissue regeneration applications. ***Journal of Materials Science 58 (2)***, p. 527-558, 2023.

[14] FORD, D. C.; HICKS, D.; OSES, C.; TOHER, C.; CURTAROLO, S. Metallic glasses for biodegradable implants. ***Acta Materialia 176***, p. 297-305, 2019.

[15] GUO, M.; HUANG, K.; XU, W. Third generation whole-cell sensing systems: synthetic biology inside, nanomaterial outside. ***Trends in Biotechnology 39(6)***, p. 550-559, 2021.

[16] GUPTA, M. Changing Wisdom of Metallic Alloys Development. ***Materials Sciences and Applications 9(13)***, p. 1021, 2018.

[17] HAIDER, A.; JAFFERY, S. H. I.; KHAN, A. N.; BUTT, S. I.; JING, X. Processing and characterization of beryllium free Ni–Cr–Mo biomaterial doped with cerium, boron and titanium for dental applications. ***Journal of Materials Research and Technology 30***, p. 7495-7509, 2024.

[18] HAN, B.; YU, S.; WANG, H.; LU, Y.; LIN, H. J. Nanosize effect on the hydrogen storage properties of Mg-based amorphous alloy. ***Scripta Materialia 216***, p. 114736, 2022.

[19] HAN, J.; HONG, J.; KWON, S.; CHOI-YIM, H. Effect of Cr Addition on Magnetic Properties and Corrosion Resistance of Optimized Co and Fe-Based Amorphous Alloys. ***Metals 11(2)***, p. 304, 2021.

[20] INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5: 2009-**Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.** 2009.

[21] ISO 10993-5:2009 **Biological evaluation of medical devices Part 5**: ***Tests for in vitro cytotoxicity***. ISO Standards 2009.

[22] JIA, X.; ZHANG, B.; ZHANG, W.; DONG, Y.; LI, J.; HE, A.; LI, R. W. Direct synthesis of Fe-Si-B-CCu nanocrystalline alloys with superior soft magnetic properties and ductile by melt-spinning. ***Journal of Materials Science & Technology 108***, p. 186-195, 2022.

[23] JICHAO, Q.; LANGTING, Z., YU, T.; GUOJIAN, L. Y. U.; QI, H. A. O.; KAI, T. A. O. Mechanical properties of amorphous alloys: In the framework of the microstructure heterogeneity. ***Advances in Mechanics 52(1)***, p. 117-152, 2022.

[24] KANEKO, K.; OTSUKA, H. New IUPAC recommendation and characterization of nanoporous materials with physical adsorption. ***Accounts of Materials & Surface Research 5(2)***, p. 25-32, 2020.

[25] LI, C.; WANG, H.; LI, J.; WANG, S.; DENG, Z.; KOU, S. Corrosion and Mechanical Properties of Novel Fe-Based Bulk Amorphous Alloys. ***Journal of Materials Engineering and Performance 32(9)***, p. 3974-3979, 2023.

[26] LI, J.; ZHENG, J.; WANG, C.; HE, A.; DONG, Y. Synergistic effects of Si, B and P on microstructure and magnetic properties of Fe-Si-BP-Nb-Cu alloys. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials 545***, p. 168771, 2022.

[27] LIN, H. J.; LU, Y. S.; ZHANG, L. T.; LIU, H. Z.; EDALATI, K.; RÉVÉSZ, Á. Recent advances in metastable alloys for hydrogen storage: a review. ***Rare Metals 41(6)***, p. 1797-1817, 2022.

[28] LIU, D.; LI, J.; NOUBISSI, R. K.; WANG, S.; XU, X.; LIU, Q. Magnetic properties and vibration characteristics of amorphous alloy strip and its combination. ***IET Electric Power Applications 13(10)***, p. 1589-1597, 2019.

[29] LIU, L.; AHMADI, Y.; KIM, K. H.; KUKKAR, D.; SZULEJKO, J. E. The relative dominance of surface oxygen content over pore properties in controlling adsorption and retrograde behavior of gaseous toluene over microporous carbon. ***Science of The Total Environment 906***, p. 167308, 2024

[30] LIU, S.; SHOHJI, I.; KOBAYASHI, T.; HIROHASHI, J.; WAKE, T.; YAMAMOTO, H.; KAMAKOSHI, Y. Mechanistic study of Ni–Cr–P alloy electrodeposition and characterization of deposits. ***Journal of Electroanalytical Chemistry 897***, p. 115582, 2021.

[31] LU, S. The effects of adding elements of the same group on the magnetic properties of FeP amorphous alloys. ***Intermetallics 174***, p. 108452, 2024.

[32] LU, S.; CHEN, X.; ZHENG, Q. Effects of the substitution of B and C for P on magnetic properties of FePCB amorphous alloys. ***Metals 14(7)***, p. 757,2024.

[33] MA, R.; CHANG, L.; DONG, Y.; YE, S.; SI, J.; YAO, K.; YU, P. Magnetic properties of soft magnetic composites fabricated by injection molding of bimodal amorphous $Fe_{73}Si_{11}B_{11}C_3Cr_2$ and crystalline $Fe_{50}Co_{50}$ powders. ***Powder Technology 397***, p. 116986, 2022.

[34] MAHAJAN, A.; SINGH, G.; DEVGAN, S. Additive manufacturing of metallic biomaterials: A concise review. ***Archives of Civil and Mechanical Engineering 23(3)***, p. 187, 2023.

[35] MARIN, E.; BOSCHETTO, F.; PEZZOTTI, G. Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. ***Journal of Biomedical Materials Research Part A 108(8)***, p. 1617-1633, 2020.

[36] MITROVIĆ, N.; KANE, S.; ROTH, S.; KALEZIĆ-GLIŠOVIĆ, A.; MICKEL, C.; ECKERT, J. The precipitation of nanocrystalline structure in the joule heated $Fe_{72}Al_5Ga_2P_{11}C_6B_4$ metallic glasses. ***Journal of Mining and Metallurgy, Section B: Metallurgy 48(2)***, p. 319-324, 2012.

[37] MOCANU, F. C.; KONSTANTINOU, K.; LEE, T. H.; BERNSTEIN, N.; DERINGER, V. L., CSÁNYI, G.; ELLIOTT, S. R. Modeling the phase-change memory material, $Ge_2Sb_2Te_5$, with a machine-learned interatomic potential. ***The Journal of Physical Chemistry B: 122(38)***, p. 8998-9006, 2018.

[38] MONFARED, A.; GHAEE, A.; EBRAHIMI-BAROUGH, S. Preparation and characterization of crystallized and relaxed amorphous Mg-Zn-Ca alloy ribbons for nerve regeneration application. ***Journal of Non-Crystalline Solids 489***, p. 71-76, 2018.

[39] NAGAY, B. E.; CORDEIRO, J. M.; BARAO, V. A. Insight into corrosion of dental implants: from biochemical mechanisms to designing corrosion-resistant materials. ***Current Oral Health Reports 9(2)***, p.7-21, 2022.

[40] NASCIMENTO, L.; LEAL, E.; GUEDES, D. G.; COSTA, M. R.; SILVA, A. L. D.; GUEDES, G. G.; COSTA, A. C. F. D. M. The amorphous phase of $Co_{67}Si_{23}B_{10}$ alloy produced by mechanical alloying. **Matéria 29(2**), p. e20240228, 2024.

[41] NASCIMENTO, L.; SILVA, A. L.; COSTA, A. C. F. M. Synthesis and Characterization of Amorphous Alloy $Co_{69}Nb_{25}B_6$. ***Chemistry Journal of Moldova 1***, p. 1-6, 2022.

[42] NOORBAKHSH, R. Z.; OSTOVAN, F.; TOOZANDEHJANI, M. Fe-Based Amorphous Alloy Coatings: A Review. ***Advanced Engineering Materials 26(11)***, p. 2302184, 2024.

[43] NUGUD, A.; ALGHFELI, L.; ELMASRY, M.; EL-SERAFI, I.; EL-SERAFI, A. T. Biomaterials as a vital frontier for stem cell-based tissue regeneration. ***Frontiers in Cell and Developmental Biology 10***, p. 713934, 2022.

[44] PARRA, C.; BOLIVAR, F. J. Effect of cobalt addition on the microstructural evolution, thermal stability and magnetic properties of Fe-based amorphous alloys. ***Vacuum 169***, p. 108911, 2019.

[45] PEI, Y.; ZHOU, G.; LUAN, N.; ZONG, B.; QIAO, M.; TAO, F. F. Synthesis and catalysis of chemically reduced metal–metalloid amorphous alloys. ***Chemical Society Reviews 41(24)***, p. 8140-8162, 2012.

[46] ROY, S. Functionally graded coatings on biomaterials: a critical review**.** ***Materials Today Chemistry 18***, p. 100375, 2020.

[47] SALWA, P.; GORYCZKA, T. Crystallization of mechanically alloyed $Ni_{50}Ti_{50}$ and $Ti_{50}Ni_{25}Cu_{25}$ shape memory alloys. ***Journal of Materials Engineering and Performance 29(5)***, p. 2848-2852, 2020.

[48] SCHINHAMMER, M.; HÄNZI, A. C.; LÖFFLER, J. F.; UGGOWITZER, P. J. Design strategy for biodegradable Fe-based alloys for medical applications. ***Acta biomaterialia 6(5)***, p.1705-1713, 2010.

[49] SERRANO-AROCA, Á.; POUS-SERRANO, S. Prosthetic meshes for hernia repair: State of art, classification, biomaterials, antimicrobial approaches, and fabrication methods. ***Journal of Biomedical Materials Research Part A: 109(12)***, p. 2695-2719, 2021.

[50] SHAO, J.; XU, C.; CHENG, K. W. E. Core stress analysis of amorphous alloy transformer for rail transit under different working conditions. ***Energies 14 (1)***, p. 164, 2020.

[51] SHARMA, K.; MUJAWAR, M. A.; KAUSHIK, A. State-of-art functional biomaterials for tissue engineering. ***Frontiers in Materials 6***, p. 172, 2019.

[52] SHI, H.; ZHOU, P.; LI, J.; LIU, C.; WANG, L. Functional gradient metallic biomaterials: techniques, current scenery, and future prospects in the biomedical field. ***Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 8***, p. 616845, 2021.

[53] SHI, L.; HU, X.; LI, Y.; YUAN, G.; YAO, K. The complementary effects of Fe and metalloids on the saturation magnetization of Fe-based amorphous alloys. ***Intermetallics 131***, p. p.107116, 2021.

[54] SHI, L.; YAO, K. Composition design for Fe-based soft magnetic amorphous and nanocrystalline alloys with high Fe content. ***Materials & Design 189***, p. 108511, 2020.

[55] SURYANARAYANA, C. Mechanical alloying: a critical review. ***Materials Research Letters 10(10)***, p. 619-647, 2022.

[56] SURYANARAYANA, S. The use of the Rapid Solidification Technique: Mechanical alloying. ***Journal of Powder Metallurgy 35(2)***. p. 50-81, 2020.

[57] TANG, B. Z.; HUANG, L. W.; SONG, M. N.; DING, D.; WANG, X.; XIA, L. Compositional dependence of magnetic and magnetocaloric properties of the Gd-Ni binary amorphous alloys. ***Journal of Non-Crystalline Solids 522***, p. 119589, 2019.

[58] TODROS, S.; TODESCO, M.; BAGNO, A. Biomaterials and their biomedical applications: From replacement to regeneration. ***Processes 9 (11)***, p. 1949, 2021.

[59] VARGHESE, S.; DEVI, R.; KUMAR, D.; KHATRI, N.; SINGH, G.; KUMAR, V. Biomaterials in Medical Applications. ***Current Materials Science: Formerly: Recent Patents on Materials Science 17(3)***, p. 212-239, 2024.

[60] WEI, S.; MA, J. X.; XU, L.; GU, X. S.; MA, X. L. Biodegradable materials for bone defect repair. ***Military Medical Research 7(1)***, p. 1-25, 2020.

[61] XIANG, H.; ZHAO, W.; JIANG, K.; HE, J.; CHEN, L.; CUI, W.; LI, Y. Progress in regulating inflammatory biomaterials for intervertebral disc regeneration. ***Bioactive Materials 33***, p. 506-531, 2024.

[62] XIE, L.; LI, Q.; CHANG, C.; FAN, X.; MA, X. Effect of magnetic field-assisted melt-spinning on the crystallization behavior and soft magnetic properties of $Fe_{85.25}B_{11.25}P_2C_{u1.5}$ nanocrystalline alloy with high Fe and Cu contents. ***Journal of Materials Research and Technology 30***, 7822-7829, 2024.

[63] XIN, Y. U. Study on Preparation Technology of Iron-Based Amorphous Alloy Powder and Bulk Amorphous Alloy. ***Mechanical Research & Application 37(3)***, p. 23-26, 2024.

[64] YANG, Q.; LI, J.; LAI, W.; LIU, J.; LIU, B. Interatomic Potential to Predict the Favored Glass-Formation Compositions and Local Atomic Arrangements of Ternary Al-Ni-Ti Metallic Glasses. ***Crystals 12(8)***, p. 1065, 2022.

[65] YUAN, H.; ZHOU, L.; WANG, G. T.; ZHENG, L. B.; YANG, Y. Z. Si microalloying optimizes the thermal stability, crystallization behaviors and magnetic properties of Fe-rich Fe-B-Cu-Hf alloys. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials 500***, p. 166339, 2020.

[66] ZHANG, Y.; LIU, Y.; ZHENG, R.; ZHENG, Y.; CHEN, L. Research progress on corrosion behaviors and biocompatibility of rare-earth magnesium alloys in vivo and in vitro. ***Journal of Rare Earths 4(12)***, p. 1827-1842, 2023.

[67] ZHAO, Y.; KOIZUMI, Y.; AOYAGI, K.; WEI, D.; YAMANAKA, K.; CHIBA, A. Molten pool behavior and effect of fluid flow on solidification conditions in selective electron beam melting (SEBM) of a biomedical Co-Cr-Mo alloy. ***Additive manufacturing 26***, p. 202-214, 2019.

Capítulo 9

Desenvolvimento de hidrogel de quitosana reticulado com genipina para liberação controlada de vancomicina

Fábio Gondim Nepomuceno
Danyelle Garcia Guedes
Adriano Lima da Silva
Pascally Maria Aparecida Guerra Araújo
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Resumo: A infecção pós-operatória é uma complicação comum e preocupante em cirurgias ortopédicas, especialmente em procedimentos de artroplastia de joelho, onde o risco de infecção é elevado devido ao uso de implantes. Para prevenir e tratar essas infecções, é essencial desenvolver sistemas terapêuticos eficazes que garantam a liberação controlada de antibióticos diretamente no local da cirurgia. Nesse contexto, a pesquisa descrita neste trabalho busca explorar uma alternativa inovadora: o desenvolvimento de um hidrogel à base de quitosana, reticulado quimicamente com genipina, que seja capaz de carregar e liberar a vancomicina de forma eficaz, contribuindo para a prevenção de infecções em implantes ortopédicos. O estudo foca nas propriedades microbiológicas, biocompatibilidade e liberação controlada do fármaco, visando demonstrar o potencial terapêutico do material desenvolvido. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um hidrogel à base de quitosana, reticulado com genipina, para liberar de forma controlada o fármaco vancomicina, visando o tratamento de infecções pós-operatórias em cirurgias de artroplastia de joelho. Foram avaliadas as propriedades microbiológicas, biocompatibilidade e a liberação do antibiótico. Os resultados mostraram que o hidrogel H5Q1GV apresentou atividade antimicrobiana significativa, com eficácia comparável ao uso de antibiótico contra bactérias oportunistas, e uma liberação estável e gradual do antibiótico, adequada para tratamentos prolongados em implantes ortopédicos. Além disso, os testes de citotoxicidade confirmaram a biocompatibilidade do material, atendendo aos padrões de segurança para uso em tecidos vivos. O estudo destaca o potencial do H5Q1GV como uma opção viável para reduzir riscos e complicações em cirurgias, especialmente em implantes ortopédicos, representando uma inovação importante no campo da engenharia de materiais médicos.

Palavras-chaves: Biocompatibilidade. Eficácia Antimicrobiana. Sistemas Terapêuticos. Aplicações Ortopédicas

1. INTRODUÇÃO

A incidência crescente de infecções pós-operatórias em procedimentos ortopédicos, especialmente em cirurgias de artroplastia de joelho, representa um desafio significativo na medicina moderna. Essas infecções, frequentemente associadas a microrganismos resistentes como *Staphylococcus aureus*, aumentam a morbidade, prolongam o tempo de recuperação e aumentam os custos hospitalares (Carvalho *et al.*, 2013). Dentre as estratégias preventivas e terapêuticas, destaca-se o desenvolvimento de sistemas que combinam propriedades antimicrobianas com a liberação controlada de medicamentos diretamente no local da cirurgia, minimizando o uso sistêmico de bactérias e os riscos associados à resistência bacteriana (Chiang *et al.*, 2016).

Nesse contexto, os hidrogéis de quitosana quimicamente reticulados com genipina surgem como uma solução promissora. A quitosana, um biopolímero natural, destaca-se por sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e atividade antimicrobiana intrínseca, enquanto a genipina, como agente reticulante, confere estabilidade mecânica e controle as propriedades de liberação do hidrogel. Incorporar a vancomicina, um antibiótico eficaz contra S. aureus, em hidrogéis de quitosana permite a liberação prolongada e localizada do fármaco, fornecendo um ambiente terapêutico adequado para prevenir infecções em implantes ortopédicos.

Estudos recentes demonstraram que os hidrogéis de quitosana-carreadora de vancomicina podem não apenas inibir a formação de biofilmes bacterianos, mas também promover a adesão e regeneração tecidual. Desta forma, o desenvolvimento e a aplicação de hidrogéis reticulados representam uma abordagem inovadora para o tratamento e prevenção de complicações infecciosas em cirurgias ortopédicas, com potencial para transformar as práticas clínicas e reduzir os impactos das infecções hospitalares.

Devido à resistência bacteriana aos antibióticos a literatura reporta que pesquisas tem dado ênfase ao desenvolvimento de revestimentos a base de biopolímeros para implantes (Mishra *et al.*, 2015), sobretudo, devido a sua biocompatibilidade (He *et al.*, 2017), serem biologicamente ativos (Iftime *et al.*, 2017) e apresentarem atividade antibacteriana (Biao *et al.*, 2017; Laskar *et al.*, 2017; Mohamed *et al.*, 2017; Wahid *et al.*, 2017), entre os quais pode-se citar: revestimento composto de hidroxiapatita/quitosana/silício em implantes de aço inoxidável 316 L com propriedades antibacterianas e bioativas (Ordikhani *et al.*, 2014); nanocompósitos de quitosana-prata usados como revestimento antimicrobiano em implantes de titânio (Mishra, Ferreira e Kannan, 2015); revestimentos para prevenção de infecções associadas a implantes de titânio como carreadores de antibióticos para evitar formação de biofilmes (Rodríguez-Contreras *et al.*, 2017).

Nesse sentido, observa-se que, entre os biopolímeros utilizados em implantes ortopédicos, a quitosana destaca-se por apresentar biocompatibilidade (Moura *et al.*, 2017), propriedades antibacterianas (Chang *et al.*, 2017) e osteogênicas (Lin *et al.*, 2017), baixo custo (Vasilieva *et al.*, 2017), biodegradabilidade (He *et al.*, 2017), não toxicidade (Zubareva *et al.*, 2017). Sendo, altamente promissora para aplicação na área biomédica e de modo particular ortopédica (Yang *et al.*, 2017); (Kim *et al.*, 2017) podendo apresentar-se na forma de géis (Wu *et al.*, 2017) membranas (Carvalho *et al.*, 2017), nanofibras (Sedghi *et al.*, 2017), micropartículas (Jeon *et al.*, 2016) nanopartículas (Sáez *et al.*, 2017).Os hidrogéis de quitosana de modo particular, destaca-se por ser uma matriz adesiva capaz de reter, liberar e distribuir, agentes terapêuticos (fármaco), no local de aplicação. Os métodos de obtenção desses hidrogéis têm sido alcançados por meio de

rotas de reticulação físicas, químicas (Jóźwiak *et al.*, 2017) o que gera alteração nas características físico-química e mecânicas da estrutura (Xu *et al.*, 2017); esterilização por plasma e raios gama que consiste em estabelecer ligações cruzadas em pontos específicos das cadeias, aumentando a estabilidade e mantendo as propriedades do biopolímero (Mozalewska *et al.*, 2017). Biomateriais de quitosana carreando vancomicina tem apresentado promissor e efetivo efeito na profilaxia de infecções em cirurgias ortopédicas pelo grande potencial na modificação da superfície de implantes cirúrgicos (Pawar *et al.*, 2019).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um hidrogel à base de quitosana, quimicamente reticulado com genipina, para carrear o fármaco vancomicina. A proposta incluiu a avaliação de propriedades microbiológicas, biocompatibilidade e liberação controlada do antibiótico, com o intuito de demonstrar sua eficácia antibacteriana e seu potencial como sistema terapêutico para uso em cirurgias de artroplastia de joelho, contribuindo para a prevenção e o tratamento de infecções pós-operatórias.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ASPECTOS CLÍNICOS E BIOMATERIAIS EM ARTROPLASTIA DO JOELHO: FUNDAMENTOS E AVANÇOS NO USO DE QUITOSANA E HIDROGÉIS

As cirurgias ortopédicas estão difundidas em todo o mundo e atualmente, com o aumento concomitante das complicações e cada vez mais a engenharia de materiais procura desenvolver biomateriais aprimorados para minimizar os riscos de falhas nos implantes (Khan *et al.*, 2016). As complicações infecciosas apresentam-se como uma ocorrência devastadora, requerendo as vezes remoção dos implantes, com alta morbidade e possível aumento da mortalidade repercutindo elevados custos econômicos e sociais (Romano *et al.*, 2015).

Figura 1 – Implante ortopédico substituindo o joelho.

A grande maioria dos casos de contaminação ocorre durante o procedimento cirúrgico (Ariza *et al.*, 2008). Os cocos gram-positivos, sobretudo *Staphylococcus coagulase-negative* e *Staphylococcus aureus,* são os germes mais comumente isolados nas cirurgias de prótese total de joelho, chegando a 60% de todos os casos (Carvalho *et al.*, 2013).

Sabendo-se que as características como forma e tipo de materiais das próteses influenciam na possibilidade de contaminação bacteriana, o último consenso sobre prótese total de joelho tem motivado pesquisas para desenvolver superfícies antibacterianas que evitem a adesão, colonização e posterior proliferação bacteriana (Cats-Baril *et al.*, 2013). Florea *et al.* (2020), confirmam a bactéria *Staphylococcus aureus* como sendo a principal causadora de infecção das próteses de joelhos, o que leva a necessidade da prevenção com modificações na prótese para prevenir a colonização bacteriana.

Desse modo, novas estratégias no campo da ortopedia, tem focado sobretudo na limitação da adesão microbiana inicial pré-operatória (Cai *et al.*, 2017) e pós-operatórias (Birt *et al.*, 2017) às superfícies dos implantes, para isso os pacientes são submetidos ao uso de antibióticos (Kapadia *et al.*, 2016). No entanto, muitos tipos de bactérias desenvolvem resistência a vários desses antimicrobianos (Cox *et al.*, 2016; Qi *et al.*, 2017) sobretudo quando a administração é via oral. Assim, uma solução bastante atraente para minimizar o uso dos antibióticos são as superfícies bactericidas que podem de forma preventiva matar bactérias em contato com a superfície do implante protegendo o local ou liberando o agente antimicrobiano e protegendo a superfície de contato (Raphel *et al.*, 2016).

Devido à resistência bacteriana aos antibióticos a literatura reporta que pesquisas tem dado ênfase ao desenvolvimento de revestimentos a base de biopolímeros para implantes (Mishra *et al.*, 2015), sobretudo, devido a sua biocompatibilidade (He *et al.*, 2017), serem biologicamente ativos (Iftime *et al.*, 2017) e apresentarem atividade antibacteriana (Biao *et al.*, 2017; Laskar *et al.*, 2017; Mohamed *et al.*, 2017; Wahid *et al.*, 2017), entre os quais pode-se citar: revestimento composto de hidroxiapatita/quitosana/silício em implantes de aço inoxidável 316 L com propriedades antibacterianas e bioativas (Ordikhani *et al.*, 2014); nanocompósitos de quitosana-prata usados como revestimento antimicrobiano em implantes de titânio (Mishra, Ferreira e Kannan, 2015); revestimentos para prevenção de infecções associadas a implantes de titânio como carreadores de antibióticos para evitar formação de biofilmes (Rodríguez-Contreras *et al.*, 2017).

Nesse sentido, observa-se que, entre os biopolímeros utilizados em implantes ortopédicos, a quitosana destaca-se por apresentar biocompatibilidade (Moura *et al.*, 2017), propriedades antibacterianas (Chang *et al.*, 2017) e osteogênicas (Lin *et al.*, 2017), baixo custo (Vasilieva *et al.*, 2017), biodegradabilidade (He *et al.*, 2017), não toxicidade (Zubareva *et al.*, 2017). Sendo, altamente promissora para aplicação na área biomédica e de modo particular ortopédica (Yang *et al.*, 2017); (Kim *et al.*, 2017) podendo apresentar-se na forma de géis (Wu *et al.*, 2017) membranas (Carvalho *et al.*, 2017), nanofibras (Sedghi *et al.*, 2017), micropartículas (Jeon *et al.*, 2016) nanopartículas (Sáez *et al.*, 2017).

Os hidrogéis de quitosana de modo particular, destaca-se por ser uma matriz adesiva capaz de reter, liberar e distribuir, agentes terapêuticos (fármaco), no local de aplicação. Os métodos de obtenção desses hidrogéis têm sido alcançados por meio de rotas de reticulação físicas, químicas (Jóźwiak *et al.*, 2017) o que gera alteração nas características físico-química e mecânicas da estrutura (Xu *et al.*, 2017); esterilização por plasma e raios gama que consiste em estabelecer ligações cruzadas em pontos específicos das cadeias, aumentando a estabilidade e mantendo as propriedades do biopolímero (Mozalewska *et al.*, 2017).

Biomateriais de quitosana carreando vancomicina tem apresentado promissor e efetivo efeito na profilaxia de infecções em cirurgias ortopédicas pelo grande potencial na modificação da superfície de implantes cirúrgicos (Pawar *et al.*, 2019). Nas pesquisas de Ide e Farrag (2020) e Yousaf *et al.* (2020), os autores evidenciam o potencial da quitosana como um bom carreador de fármaco no combate a infecção bacteriana.

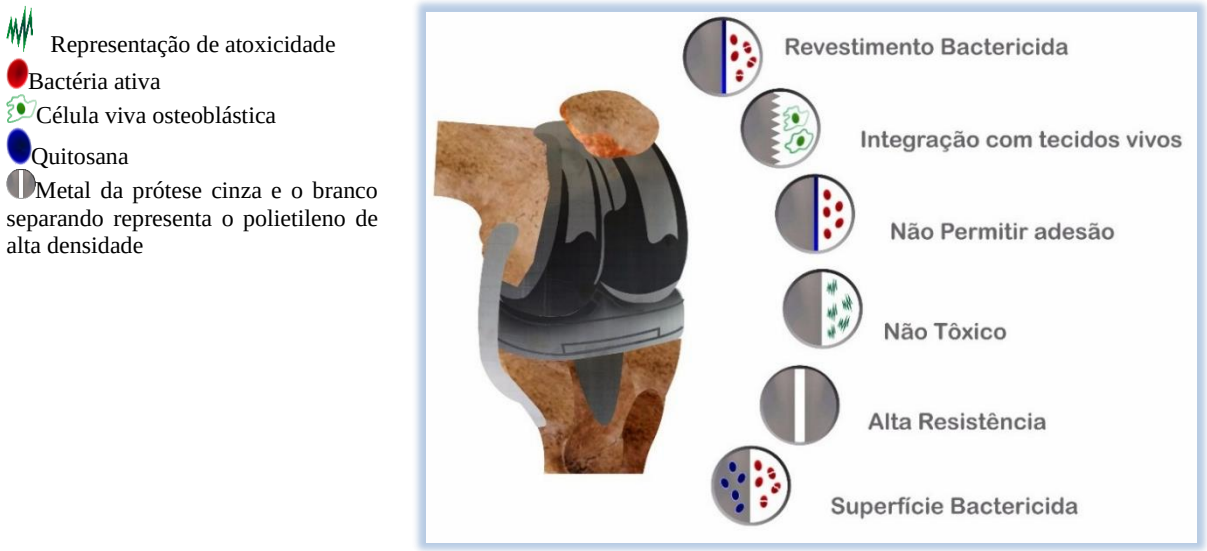
Kumar *et al.* (2021), enfatizou o sucesso da quitosana no combate ao *Staphylococcus aureus.* Nos estudos de Perni e Prokopovich (2020) e Osmani *et al.* (2021), os pesquisadores evidenciam a necessidade de uma nova abordagem frente a crescente resistência antibiótica nas infecções em próteses e infecções associadas a diabetes que mesmo com os avanços da medicina ainda apresentam elevada morbidade. Dentre os vários antibióticos utilizados para o combate do *Staphylococcus aureus* Filipović *et al.* (2020), mostram que o uso da Vancomicina como uma boa indicação em antibiótico tópico para prevenir infecção em prótese de joelho e enfatiza seu uso em hidrogéis como uma boa opção.

Nesse contexto, embora os estudos recentes tenham progredido muito na exploração das propriedades antibacterianas das superfícies modificadas a aplicabilidade prática nas cirurgias ortopédicas ainda é muito limitada.

Na UFCG, a quitosana em hidrogel foi amplamente estudada para ser utilizada nas cirurgias ortopédicas com implante e minimizar o risco de infecção, carreando o fármaco vancomicina mostrou-se eficaz in vitro para minimizar o risco de complicaçõe s infecciosas.

Uma série de tecnologias tem sido propostas para a melhoria dos implantes ortopédicos. Entre as tecnologias busca-se uma superfície inteligente as que combinam as propriedades antiadesivas, e as que funcionam como agentes antimicrobianos, ou seja, capazes de oferecer múltiplas atividades biológicas simultaneamente. (Gallo *et al.*, 2014).

Figura 2 – Superfícies multifuncionais modificadas dos implantes.



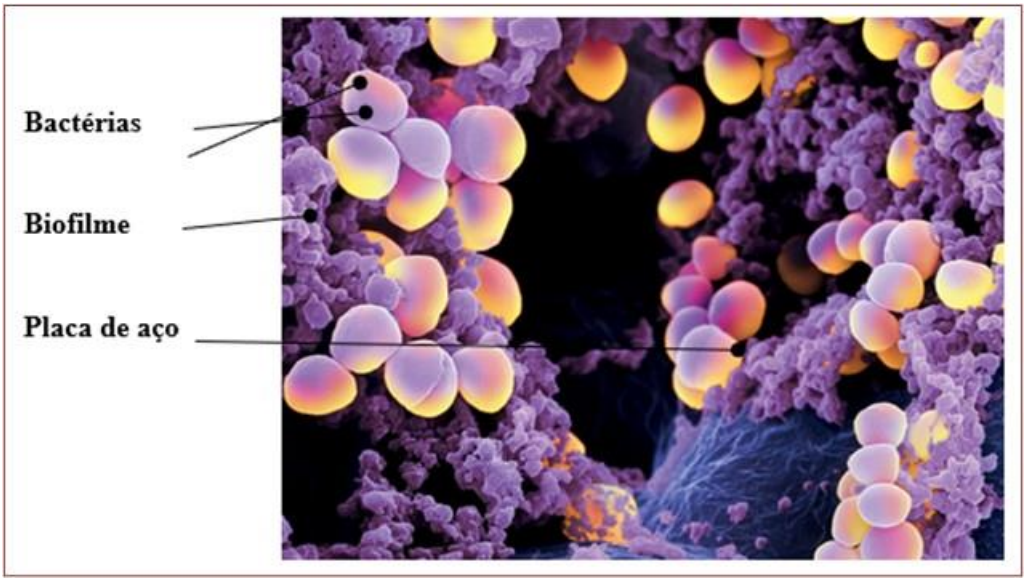
Em geral as taxas médias de infecção global durante os 2 primeiros anos pós operatórios de artroplastia total de joelho primária são de 2,5% de infectados e nas artroplastias secundarias (necessidade de trocar a prótese em nova cirurgia) 5,6% dos casos infectam. Gerando um custo adicional de aproximadamente 50.000 dólares (Romano *et al.*, 2015).

Em geral as taxas médias de infecção global durante os 2 primeiros anos pós operatórios de artroplastia total de joelho primária são de 2,5% de infectados e nas artroplastias secundarias (necessidade de trocar a prótese em nova cirurgia) 5,6% dos casos infectam. Gerando um custo adicional de aproximadamente 50.000 dólares (Romano *et al.*, 2015).

O diagnóstico da infecção pode ser realizado de forma simples e objetiva em alguns casos observando-se os achados clínicos do paciente com febre e exuberância de sintomas outros apresentam formas complexas e difíceis de serem diagnosticada necessitando confirmação nos exames laboratoriais de cultura; estudo do líquido puncionado, testes rápidos dosando a alfa-defensina além dos exames de imagem, iniciando com a radiografia simples, passando pela ressonância magnética e PET-Scam, estando a cintilografia em desuso pelo custo alto e dificuldade de execução.

A infecção ocorre imediatamente na cirurgia ou logo após a cirurgia e mais raramente por via hematogênica que é a disseminação da bactéria oriunda de um local distante da região operada, mas chega até a prótese pela corrente sanguínea. O corpo estranho neste caso a prótese permite a formação do biofilme bacteriano resistente aos mecanismos de defesa do organismo e aos antibióticos e a bactéria mais comum nas artroplastias totais de joelho é a *Staphylococcus aureus*. Na Figura 3, apresenta-se a micrografia da *Staphylococcus aureus*, onde pode-se observar que as bactérias se apresentam na forma cocos(esféricas).

Figura 3 – MEC evidenciando a bactéria *Staphylococcus aureus* (Martin Oerggerli, Schoolof Life Sciences, FHNW).



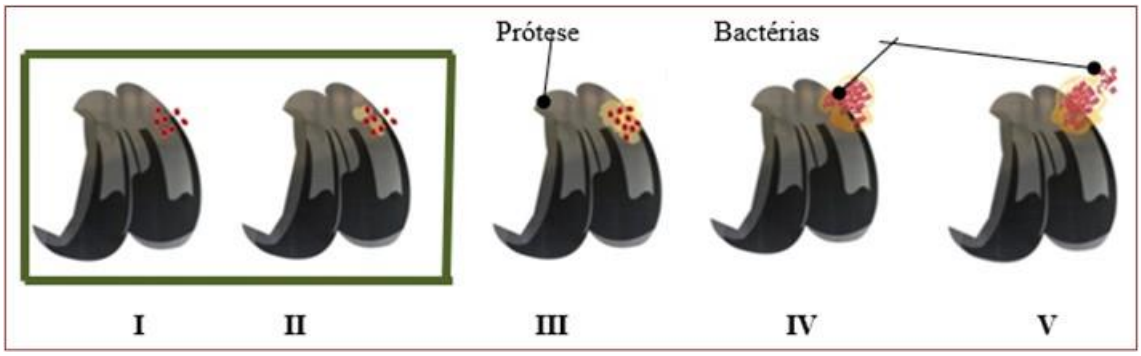
Estudos recentes, sobretudo em organismos resistentes a meticilina, como cepas de *Staphylococcus aureus,* tem sido alvo de preocupação, devido a sua alta virulência, sendo altamente correlacionado com infecções hospitalares. Dentre os fatores de virulência desta espécie, pode-se citar a grande capacidade de reprodução nos tecidos, aderência a cateteres e a cápsula, que protege a espécie de fagocitose, dentre outras. O ser humano pode ser considerado portador de *Staphylococcus aureus,* uma vez que, este microrganismo pode ser encontrado na mucosa nasal de indivíduos saudáveis (Silva *et al.*, 2010).

Sabe-se que a hidrofobicidade superficial e a carga elétrica de bactérias variam entre as espécies e as estirpes e são influenciados pelo ambiente externo, e o ciclo de vida das bactérias. Estudos relatam que, para o mecanismo de adesão, bactérias hidrofóbicas se aderem em maiores extensões a superfícies hidrofóbicas, enquanto as bactérias hidrofílicas preferem as superfícies hidrofílicas. No que desponta o crescimento bacteriano, as bactérias apresentam nas fases iniciais evidências de serem carregadas negativamente, permitindo a adesão com superfícies carregadas positivamente através de uma ligação eletrostática (Lin *et al.*, 2017).

As características ambientais e superficiais de um biomaterial, tais como rugosidade superficial, hidrofobicidade e carga eletrostática, desempenham papéis condicionais. Muitos receptores podem aderir bactérias flutuantes à superfície do biomaterial e sua colonização no corpo do hospedeiro. Ocorre, portanto uma "corrida pela superfície" na qual as células hospedeiras e bacterianas competem pelo destino do implante. Consequentemente, quando as células hospedeiras colonizam a superfície do implante estas podem aderir e sobreviver em praticamente todas as superfícies naturais e sintéticas; competição entre célula hospedeira completa versus cobertura de célula bacteriana de uma superfície de implante (Gallo *et al.*, 2014).

A adesão bacteriana do implante pode ser visualizada na Figura 4. O componente maior cinza corresponde a prótese de joelho e os pequenos pontos vermelhos representam as bactérias proliferando sobre o metal.

Figura 4 – Ilustração esquemática do processo de colonização do biomaterial por bactérias até a formação de biofilme evidenciando o período de janela inicial nas etapas I e II onde o biofilme não está formado. I: adesão reversível; II: adesão irreversível; III:maturação inicial; IV:maturação tardia; V: dispersão de colônias. (Figura do autor).



A Tabela 1 apresenta exemplos de tratamento na superfície em próteses e implantes ortopédicos visando minimizar as chances de processos infecciosos.

Tabela 1 - Exemplos de estratégias anti-infecciosas propostas para o tratamento de superfícies em cirurgia ortopédica. (Gallo, Jiri *et al.*, 2014).

Estratégia	Características	Exemplos
Prevenir adesão e adsorção		Polímeros anti-adesivo Albumina Super-hidrofóbico Superfície Nano-modificadas Hidrogel
Métodos de matar bactérias	Inorgânico	Nanopartículas de prata Dióxido de titânio Íon selênio Íon de cobre Íon de zinco
	Orgânico	Revestimento ou ligação covalente com antibióticos Derivados de quitosana
		Peptídeos de sinalização, inibição e antimicrobianos
		Citocinas Enzimas
	Outros	Substânciasbactericidasnãoantibiôticas
	Combinados	Revestimento multifuncional Intensificação do material de sinergia Polímerospositivamentecarregados
Revestimento multifuncional e inteligente	Passivo	Material inteligentenão- estruturado
	Ativo	Conceito: sensores unidos a nanorecipientes
Abordagem alternativa		Bacteriófagos líticos

A quitosana apresenta-se como um biopolímero promissor para uso na engenharia de biomateriais devido à sua boa biocompatibilidade, degradabilidade, atividade antibacteriana e baixa imunogenicidade (Fan *et al.*, 2017).

Os grupos acetilo da cadeia molecular de quitina são removidos para formar grupos amino. O grau de desacetilação é o que determina o conteúdo de grupos amino livres em polissacarídeos e pode ser empregado para diferenciar a quitina e quitosana. Sabe-se que, o grau de desacetilação é uma das características químicas mais importantes,

e que pode influenciar o desempenho de quitosana em muitas aplicações. Em geral, quanto maior a solubilidade em meio ácido, maior grau de desacetilação e quanto maior este, maior o número de cargas positivas e maior e mais forte a atividade antibacteriana (Hosseinnejad e Jafari, 2016).

A quitosana pode ser classificada como de baixa massa molecular e de elevada massa molecular. A de baixa massa compreende a quitosana entre 5000 a 10.000 Da, e a de alta massa molecular é a quitosana acima de 10.000 Da. A quitosana que apresenta massa molecular elevado tem alta viscosidade e baixa solubilidade. No que diz respeito, a ação biológica a quitosana de baixa massa molecular apresenta importantes efeitos antitrombóticas, antitumorais e antimicrobianos (Jennings e Bumgardner, 2016).

Devido à sua boa biocompatibilidade, degradabilidade, atividade antibacteriana e baixa imunogenicidade, aminoácidos ativos e os grupos hidroxila na molécula fornecem locais para uma variedade de ligações o que faz da quitosana um biopolímero promissor para aplicação médica (Fan *et al.*, 2017).

Em relação ao caráter antimicrobiano da quitosana em revestimentos de implantes ortopédicos a existência de cargas positivas, capazes de interagir eletrostaticamente com as cargas negativas das membranas celulares dos microrganismos explica essa característica. O efeito osteogênico ocorre por causa de interações em superfícies hidrofílicas que são comparativamente mais favoráveis para as funções das células ósseas (por exemplo, adesão, espalhamento, morfologia, proliferação, diferenciação) e regeneração do osso em comparação com as superfícies hidrofóbicas (Lin *et al.*, 2017).

Na Tabela 2, ao avaliar a MIC (concentração inibitória mínima) no que diz respeito ao efeito bactericida da quitosana contra o *Staphylococcus aureus* (principal responsável pela infecção em próteses de joelho), observa-se que baixas concentrações de quitosana em torno de 20 partes por milhão (ppm) são suficientes para inibir o crescimento bacteriano e acima de 500 ppm matam todas as bactérias após 120 minutos de exposição (Rabea, E. I. *et al.*, 2003).

Tabela 1 - MIC da quitosana utilizada contra bactérias.

Bactéria	*MIC(ppm)
Agrobacteriumtumefaciens	100
Bacillus cereus295	1000
Corinebacteriummichiganence	10
Erwinia sp.	500
Erwiniacarotovorasubsp.	200
Escherichia coli	20
Klebsiella pneumoniae	700
Micrococcusluteus	20
Pseudomonas fluorescens	500
Staphylococcus aureaus	20
Xanthomonas campestres	500

*MIC = concentração inibitória mínima.

Fonte: Rabea, *et al.,* 2003.

A atividade antibacteriana evidencia que, a quitosana apresenta efeitos bactericidas mais fortes em bactérias gram-positivas do que gram-negativas. Mesmo em baixas concentrações, a quitosana liga-se à superfície celular negativamente carregada, interage com a superfície da bactéria e pode provocar sua morte induzindo disruptura da

membrana celular e extravasamento de componentes intracelulares. Enquanto que, em concentrações mais elevadas, a quitosana protonada pode revestir a superfície celular e evitar a fuga dos catabólitos intracelulares (Rabea, Entsar I *et al.*, 2003).

A quitosana é um dos biopolímeros naturais mais abundantes e que tem sido mais aplicado nas áreas médicas e farmacêuticas em comparação com os hidrogéis convencionais, devido sua facilidade de formar gel e filme, a quitosana tem potencial aplicação, sobretudo como carreador de fármaco (Yadollahi *et al.*, 2015).

Hidrogéis de quitosana reticulada apresentam atividade antimicrobiana e taxa de degradação adequada contra infecções resistentes a múltiplos fármacos e são aplicados na área biomédica, como revestimento de implantes, para encapsular células e medicamento (Sapru *et al.*, 2017).

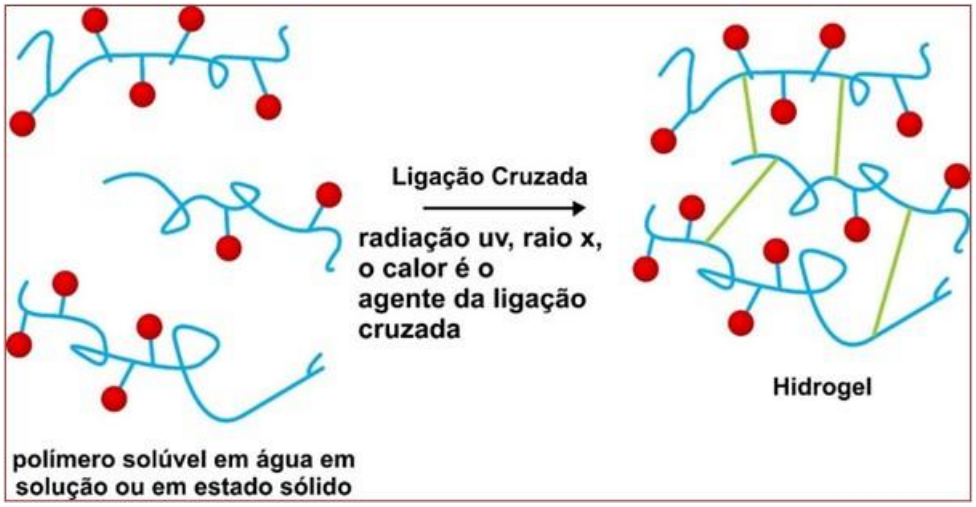
Os hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais flexíveis e elásticas, baseados em redes moleculares hidrofílicas (Solé *et al.*, 2017b), compostas de polímeros produzidos por uma reação de um ou mais monômeros ou polímeros, capazes de associar-se através de pontes de hidrogênio ou interações eletrostáticas. Os polímeros que formam o hidrogel tipicamente contêm grupos hidrofílicos, tais como OH, COOH, NH_2, -$CONH_2$, -CONH-, -SO_3H e apresentam capacidade de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, dissolvidos em condições fisiológicas (Muñoz-Muñoz *et al.*, 2015).

Nos anos 60, os hidrogéis foram criados e aplicados na área biomédica. Algumas propriedades físicas comuns são muito semelhantes às dos tecidos vivos, como alto teor de água, textura de borracha, baixa tensão interfacial, que pode atribuir uma excelente biocompatibilidade e minimizar as reações inflamatórias no entorno de tecidos (Jiang *et al.*, 2016).

O progresso de obtenção de hidrogéis de quitosana foi recentemente revisado, sendo um dos materiais mais estudados para a administração controlada de medicamentos (Solé *et al.*, 2017b) e podem ser reticulados fisicamente ou quimicamente. A reticulação consiste na estabilidade entre as cadeias do polímero por meio de interações químicas ou físicas. Após a reticulação, os hidrogéis têm capacidade de reter água absorvida na sua estrutura (Kamoun *et al.*, 2017).

Os hidrogéis formados *in situ* através de reticulação física ou reticulação por radiação tem recebido notável atenção, sobretudo como carreadores de fármaco, por não envolver componentes tóxicos, sofrer transição a partir da sua estrutura tridimensional onde ligações reticuladas são formadas a partir de forças de atração não covalente, pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre as cadeias de polímero (Figura 5) (Croisier e Jérôme, 2013).

Figura 5 - Síntese de hidrogéis por ligação cruzada de polímeros solúveis em água pré-fabricados (Caló e Khutoryanskiy, 2015).



Portanto, os hidrogéis de quitosana, especialmente quando reticulados com agentes como a genipina, destacam-se como materiais de grande interesse para aplicações biomédicas devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Sua biocompatibilidade, atividade antimicrobiana e capacidade de degradação controlada os tornam ideais para uso em sistemas terapêuticos avançados. A seguir, serão descritos os materiais e métodos empregados para avaliar o desempenho biológico de hidrogéis de quitosana reticulados com genipina, incluindo ensaios que investigam sua citocompatibilidade, atividade antimicrobiana e outras características relevantes para aplicações biomédicas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

Os materiais utilizados neste estudo incluem quitosana (Q1) de baixa massa molecular, com grau de desacetilação aproximado de 90%, fornecida pelo CERTBIO (De Queiroz Antonino *et al*., 2017), adquirida da Sigma-Aldrich. Também foi utilizado ácido lático com pureza superior a 98%, fornecido pela Sigma-Aldrich, e genipina (G) com pureza superior a 98%, também adquirida da Sigma-Aldrich. O cloridrato de vancomicina (V), pó liofilizado, foi fornecido pela EUROFARMA, com a concentração de 500 mg por frasco ampola. A água para injeção foi fornecida pela Fresenius Kabi Brasil, com pH entre 5 e 7, e tampão fosfato-salino (PBS), com pH 7,4 e concentração de 0,1M, também foi utilizado.

3.2. MÉTODOS

A produção do hidrogel seguiu a metodologia descrita por Solé *et al.* (2017a), nas "Patent Translate" CN105920675 e CN105968388 e Mi *et al.* (2000). Primeiramente, foi preparada uma solução de quitosana a 1,5% (m/v), dissolvendo 1,5 g de quitosana em 100 mL de solução de ácido lático a 1% (v/v). Em seguida, foi adicionado o fármaco vancomicina, conforme a metodologia proposta por Talebian e Mansourian (2017).

A obtenção dos hidrogéis foi realizada em ambiente controlado, de acordo com as especificações da farmacopeia brasileira. Este ambiente, denominado sala padronizada, é aquele onde a concentração de partículas em suspensão no ar é controlada, além de permitir o monitoramento constante de outros parâmetros relevantes, como temperatura e umidade (ANVISA, 2010).

Durante todo o processo experimental, foram utilizados equipamentos como pipetas, béqueres e agitadores magnéticos, os quais foram esterilizados em autoclave Baumer por 15 minutos a 127 ºC. A água empregada no processo seguiu os requisitos da farmacopeia brasileira (5ª edição, 2010), atendendo aos testes físico-químicos para água purificada e aos ensaios de contagem total de bactérias (< 10 UFC/100 ml), esterilidade, particulados e endotoxinas bacterianas (máximo de 0,25 UI de endotoxina/ml), conforme estabelecido pela ANVISA (2010).

Na primeira etapa, diferentes hidrogéis foram preparados variando as quantidades das matérias-primas para avaliar suas características. Para a produção do hidrogel, iniciou-se com a preparação de uma solução base, dissolvendo o polímero quitosana em ácido lático a 1% (v/v), resultando em uma concentração final de 1,5% (m/v) da solução polimérica. A solução foi agitada magneticamente, modelo Fisatom, a 840 rpm por 1 hora, a 25 ºC, sob cúpula fechada para evitar contaminantes. Após esse período, a solução foi mantida em repouso por 30 minutos. Esta solução base foi utilizada para a formação do hidrogel.

A reticulação da solução base foi realizada com o agente reticulante genipina e a adição do fármaco vancomicina, sendo executadas três formas distintas de preparação, conforme descrito a seguir: primeiro, o agente reticulante foi adicionado à solução de quitosana e, em seguida, o fármaco vancomicina. Para isso, 20 mL da solução de quitosana foram retirados, e 0,012 g do agente reticulante genipina, dissolvido em 1 mL de água destilada, foi adicionado sob agitação. A mistura permaneceu agitada por 4 horas. Posteriormente, 0,2 g do fármaco vancomicina, também dissolvido em 1 mL de água destilada, foi adicionado, e a agitação continuou por mais 12 horas a 840 rpm. Ao final do processo, obteve-se 20 g de hidrogel com a seguinte composição: 1,5% (m/m) de quitosana, 1% (m/m) de fármaco vancomicina e 0,06% (m/m) de genipina.

Todas as variações quanto às quantidades das matérias-primas estão resumidas na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição das matérias-primas, procedimento e tempo utilizado na produção dos hidrogéis.

Hidrogel	Q1 (g)	G (g)	V (g)	Temo (h)
H_5Q_1GV	1,5	0,06	1,0	12

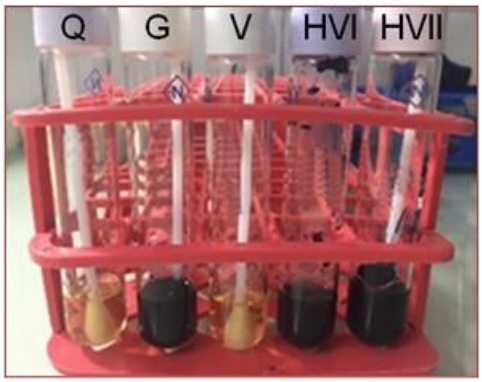
3.4. CARACTERIZAÇÕES BIOLÓGICAS

3.4.1. TESTES DE ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA - TESTES DE PRESENÇA DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS E TESTES DE CAPACIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO DOS HIDROGÉIS

Os testes microbiológicos preliminares de ausência de contaminantes biológicos foram realizados no Prosangue Diagnóstico Laboratório e Centro médico – Unidade de Campina Grande. Foram analisadas as seguintes amostras: quitosana, vancomicina,

genipina, ácido lático e os hidrogéis de quitosana e quitosana carreando vancomicina (Figura 6).

Figura 6 - Materiais para testes de ausência de contaminação.



As amostras foram imersas em tubos contendo 5 mL de um meio líquido enriquecido com BHI (*Brain-Heart Infusion*), que permite que haja proliferação de células microbianas, visando aumentar o número de bactérias presentes nas amostras. Os tubos de BHI foram incubados em estufa bacteriológica na temperatura de 35º± 2º C por 24 horas.

Após o período de incubação com o auxílio de hastes flexíveis estéreis as amostras imersas em BHI foram semeadas em placas contendo meio de Ágar sangue de carneiro, visto que esse meio apresenta uma base rica e suplementada proporcionando o crescimento adequado de bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. As placas semeadas foram incubadas em estufa bacteriológica na temperatura de 35º± 2º C por 48 horas e na leitura não evidenciaram crescimento de bactérias e fungos/leveduras nos materiais analisados.

Microbiologia certificada no produto final foi realizada no CERTBIO com contagem do número total de microorganismos mesofílicos no hidrogel de quitosana sem o fármaco vancomicina para avaliar contaminação com fungos/leveduras ou bactérias. A amostra foi manipulada em ambiente estéril utilizando a cabine de segurança biológica da marca Quimis. Para o ensaio, foram utilizados os meios de cultura Ágar casína-soja (Caldo caseína-soja) e Ágar Sabouraud-dextrose (Kasvi – Italy). A verificação de microorganismos foi realizada através da Contagem do número total de microorganismos mesofílicos, metodologia preconizada pela Farmacopeia Brasileira (5º Edição). A determinação foi efetuada pelo método em placa e não ter havido crescimento de bactérias e fungos/leveduras no material analisado (hidrogel de quitosana reticulado com Genipina)

Os hidrogéis foram submetidos a testes *in vitro* para avaliar a atividade antibacteriana da quitosana pura e associada à vancomicina, sendo utilizado a clássica técnica com difusão de disco ou o teste de Kirby-Bauer pela praticidade, custo compatível com o orçamento da pesquisa, eficiência comprovada sendo o método mais utilizado no mundo para avaliar o efeito antimicrobiano.

O ensaio foi realizado no CERTBIO sendo manipuladas em ambiente estéril utilizando a cabine de segurança biológica da marca Quimis, seguindo a Farmacopéia Brasileira (5º edição). Para o ensaio foi utilizado o meio de cultura Mueller HintonBroth

(Caldo Mueller Hinton-Kasvi–Italy) adicionados de meio solidificante (Bacto Agar – BD) e testados seguindo método solicitado (disco difusão). As amostras foram testadas frente à cepa de interesse na cirurgia do joelho: *Staphylococcus aureaus* ATCC 25923. O crescimento bacteriano nas placas de Agar evidenciou que as bactérias estavam ativamente em desenvolvimento de suas colônias

A amostra do hidrogel com vancomicina e quitosana (HG2); o controle positivo com vancomicina (C+V) e o controle negativo com solução salina (C), foram distribuídos sobre a superfície do Ágar, que posteriormente foi incubado em estufa bacteriológica na temperatura de 35º± 2º C por 24 horas e 48 h realizados em triplicata.

Passado o tempo de incubação foi realizada a leitura e interpretação dos resultados, observando-se a presença ou não de halos de inibição de crescimento, uma zona circular clara, sem crescimento na vizinhança do hidrogel, indicando efeito antimicrobiano e através de tabelas de referência, o tamanho da zona em milímetros pode ser relacionado ao MIC e avaliado se o organismo é suscetível ou resistente ao agente antimicrobiano.

3.4.2. ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO CLORIDRATO DE VANCOMICINA

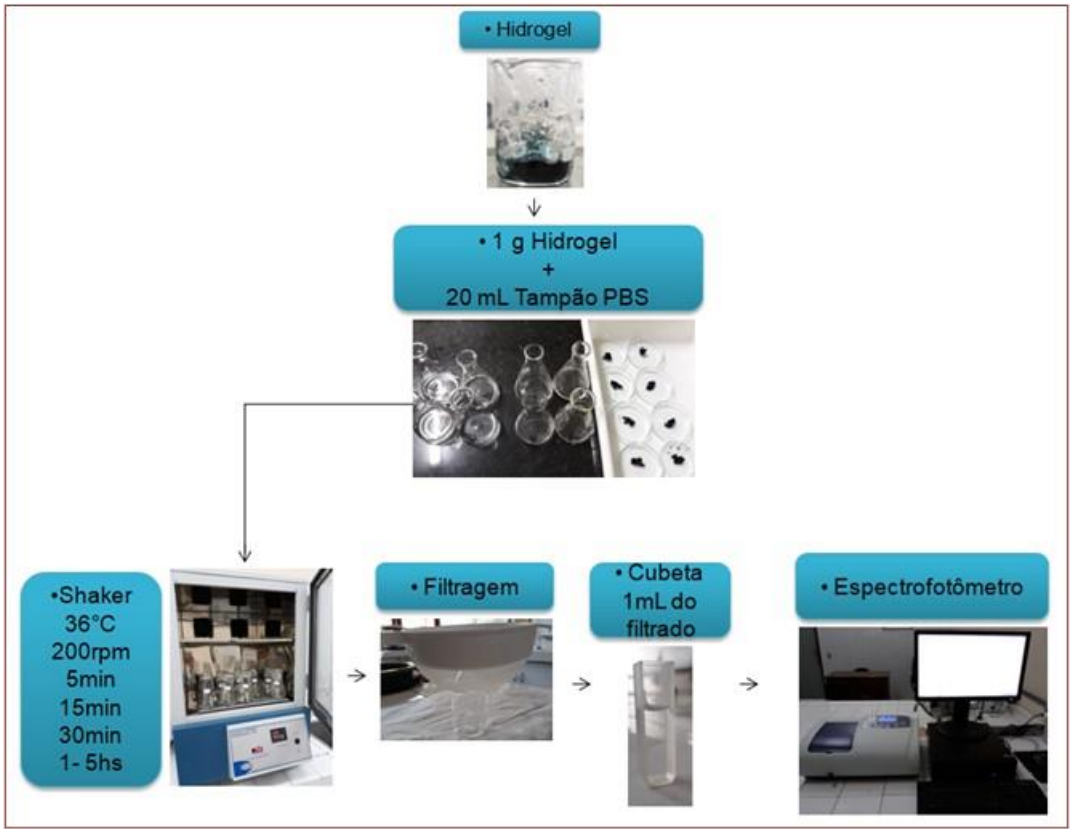
Os ensaios para liberação do fármaco foram realizados de forma descontínua, com agitação e temperatura controlada.

Eram pesados 1g de hidrogel, já contendo o fármaco, colocados em Erlenmeyer de 250 mL, adicionados 20 mL de tampão fosfato pH 7, levados para incubadora shaker sob agitação de 200 rpm e temperatura controlada de 36°C. Foram preparadas uma quantidade suficiente de amostras para que o acompanhamento cinético da liberação do fármaco fosse realizado até que a condição de equilíbrio fosse atingida.

A cada 5 minutos era retirado um Erlenmeyer da incubadora shaker, o hidrogel era separado da solução por meio de peneira comercial, e o líquido translúcido era submetido à análise espectrofotométrica no comprimento de onda na região UV de 284 nm para quantificação da concentração da vancomicina na solução. O valor da absorbância era correlacionado com a concentração por meio de uma curva de calibração previamente obtida com a solução de concentração conhecida da vancomicina, na região linear, conforme recomenda-se a Lei de Lambert-Beer.

Na Figura 7 pode-se observar o fluxograma da quantificação da vancomicina no espectrofotômetro.

Figura 7 - Fluxograma para quantificação da vancomicina no espectrofotômetro UV - visível.



O percentual de fármaco liberada com o tempo foi obtido pela Equação (1) mostrada a seguir. Para o balanço de massa, admitiu-se que toda a vancomicina introduzida durante o preparo do hidrogel, foi retido pelo mesmo até o momento da liberação.

$$\textbf{\% Liberada} = \frac{Mt^* 100}{Mi} \quad (1)$$

Onde:

% Liberada - porcentagem de fármaco liberado no tempo;

Mt- massa de fármaco liberado na solução tampão no tempo;

Mi- massa de fármaco inicialmente colocado no hidrogel.

Deve-se ressaltar que o percentual máximo liberado deve ser igual a quantidade inicial de vancomicina introduzida no hidrogel. Os ensaios de liberação foram realizados em duplicadas, partindo do mesmo hidrogel (carreado de fármaco) com intervalo de 7 dias. Nesse período o hidrogel foi acondicionado em recipiente de vidro, lacrado e mantido em geladeira.

Os ensaios de liberação foram realizados da mesma forma e nas mesmas condições para todos os hidrogéis preparados, independentemente, da forma como foi adicionado o fármaco: o fármaco foi adicionado junto com o agente reticulante (R1); o fármaco foi adicionado primeiro à solução base e depois foi realizado a reticulação (R2) ou agente reticulante foi adicionado primeiro a solução base e depois foi realizada a adição do fármaco vancomicina (R3).

As leituras das absorbâncias do hidrogel (carreadores de fármaco) foram realizadas em espectrofotômetro Bel Photonics 2000 UV, na região do comprimento de onda máximo de 284 nm. Este comprimento foi determinado após *scanner* da solução do fármaco no espectrofotômetro no intervalo entre 210 a 300 nm, conforme detalhado no Apêndice A. Com base nessa leitura, a curva de calibração foi obtida e a correlação na faixa linear da lei de Lambert-Beer, Absorbância x Concentração, foi utilizada para quantificar a concentração do fármaco nos experimentos de liberação.

A quantidade máxima de cloridrato de vancomicina (vancomicina) que deve ser liberada em cada hidrogel (sistema carreador) pode ser igual a quantidade de massa inicialmente colocada em cada composição. Assim, pode-se determinar a massa de fármaco que é liberada, por meio de um balanço de massa aplicado entre a solução tampão e o hidrogel, de massa conhecida, usado para a liberação.

3.4.3. CITOTOXICIDADE

Buscando avaliar a viabilidade do uso do hidrogel (quitosana/genipina) como sistema carreador do fármaco vancomicina será averiguado a análise in vitro por meio de ensaios de citotoxicidade.

A realização do teste de citotoxicidade tem como finalidade avaliar o potencial de um material em produzir efeitos adversos em sistemas biológicos a nível celular que possam vir a lesar as células ou reduzir a taxa de crescimento celular da cultura. Foi utilizado uma cultura de fibroblastos (L929) Norma (ISO 10993-5: (2009)), com utilização de câmara de fluxo laminar; incubadora; espectrofotômetro; microscópico óptico invertido e contador automatizado de células.

O teste de citotoxicidade pode ser realizado por três vias: o teste por eluição, o teste por contato direto e o teste por difusão em ágar. No presente trabalho foi utilizado o teste indireto de difusão em ágar, sendo seu efeito avaliado pela amostra através da camada de ágar, que protege as células de tecido conjuntivo de rato (fibroblastos de linhagem celular L-929) do dano mecânico durante a colocação da amostra e permite a difusão de substâncias químicas que migram das amostras de polímeros.

O Método de difusão em ágar (Cytotoxicity assay), ensaio de citotoxicidade in vitro foi o mais adequado para avaliação de segurança de materiais plásticos, elastômeros e de outros polímeros, empregados na fabricação de dispositivos e acessórios de uso médico e hospitalar em contato direto ou indireto com o tecido humano.

As amostras foram esterilizadas por radiação ultravioleta em cabine de fluxo laminar BIOGREEN por 1h, em ciclo de 30 min para cada lado da amostra. Desta maneira, as amostras foram padronizadas com uma área de aproximadamente 100 mm^2 (10 mm x 10 mm). Em seguida, foi preparado os controles positivos (Látex para garrote) e negativos (Papel de filtro Whatman n.01 ou PEAD - Polietileno de alta densidade).

Foi utilizado para o ensaio uma suspensão de células L-929 com concentração na faixa de 1,1 a 1,3 x 105 células viáveis por ml em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino (FBS). Foram colocados 4 ml da suspensão celular obtida em cada orifício da microplaca plástica de cultura (3,5 cm de diâmetro). Então, foram preparadas culturas em duplicata para a amostra, controle negativo, controle positivo e branco. As culturas foram incubadas em estufa a 37 ºC ± 1 °C com 5 % ± 1% de CO_2.

Aproximadamente quarenta e oito horas após o estabelecimento das culturas, utilizou-se para o ensaio aquelas que apresentaram uma monocamada celular uniforme e próxima à confluência (confluência superior a 80%). Dessa forma, o meio de cultura das microplacas foi aspirado, a monocamada de cada orifício da placa foi lavada com 2 mL de solução PBS que em seguida também foi aspirado, foi adicionado 1 mL do meio de cobertura em cada poço, este meio é composto pelo agar a 1,8%, adicionado do corante vermelho neutro a 0,01% e MEM 2X concentrado, em quantidades iguais. As placas permaneceram na capela de fluxo laminar por 10 min, aguardando a solidificação do ágar, à temperatura ambiente.

Dessa maneira, foram colocados em contato com a superfície solidificada do ágar, no centro de cada placa, as amostras padronizadas obtidas do respectivo material, o controle negativo e o controle positivo, em culturas em duplicata.

Assim, as placas foram encubadas na posição invertida, embrulhadas em folha de papel de alumínio para evitar o dano celular por fotoativação do vermelho neutro (ISO 10993-5), por pelo menos 24 horas em estufa a 37 °C ± 1°C, umidificada e com 5% ± 1% de CO_2 para avaliação da citotoxicidade.

A avaliação da citotoxicidade aconteceu vinte e quatro horas após a aplicação da Amostra, observado microscopicamente a morfologia e a coloração das células sob e ao redor das amostras a serem testadas e dos Controles. Foi medido macroscopicamente a extensão da área descorada (células mortas) a partir das extremidades da amostra nos 4 diferentes quadrantes com o auxílio do paquímetro. Foi calculado o valor médio dos valores dos 4 diferentes quadrantes. Os valores médios obtidos para cada amostra e controles com os limites especificados para os diferentes graus de citotoxicidade indicados na Tabela 04.

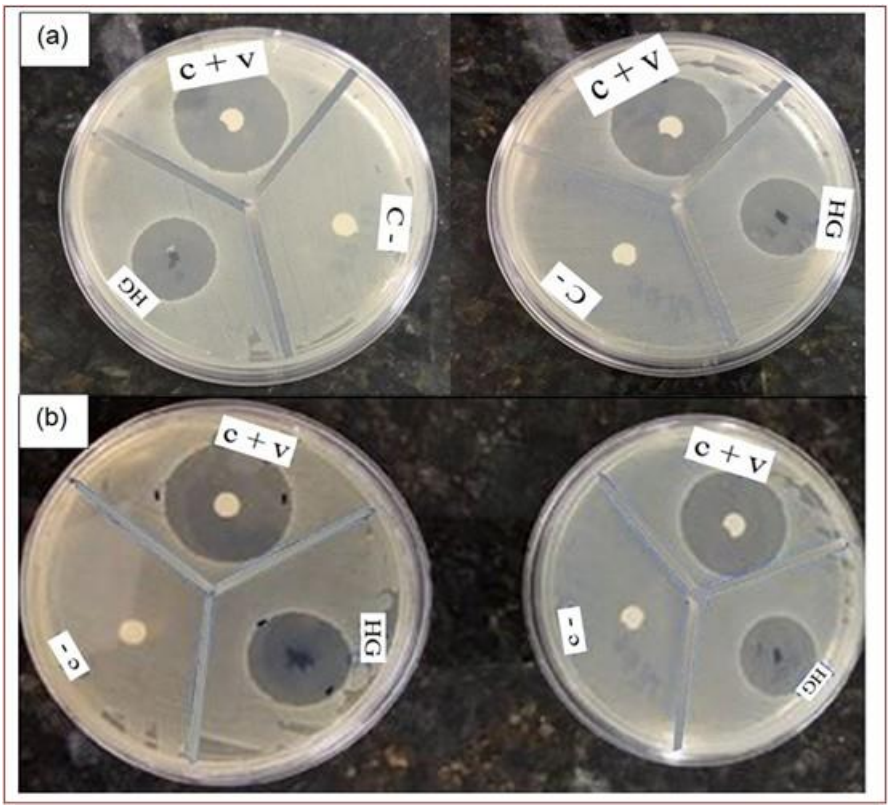
O grau de citotoxicidade é qualificado numa escala de 0 a 4. O grau 0 indica ausência de citotoxicidade, caracterizada pela ausência de descoramento ao redor ou sob a amostra. O grau 1 é classificado como leve, quando há uma zona de descoramento limitada à área sob a amostra. O grau 2, considerado brando, é identificado quando o tamanho da zona de descoramento a partir da amostra é menor que 0,45 cm. O grau 3, moderado, ocorre quando o tamanho da zona de descoramento a partir da amostra varia entre 0,45 cm e 1,0 cm. Por fim, o grau 4 é classificado como severo, quando o tamanho da zona de descoramento a partir da amostra é maior que 1,0 cm, embora não envolva a placa inteira.

O corante vital vermelho neutro adicionado ao meio de cobertura é captado rapidamente pelas células vivas, armazenado em lisossomos (Grasso *et al.*, 1973), corando as células em vermelho, durante o processo de necrose as células coradas liberam o corante produzindo regiões com células mortas descoradas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 8 ilustra as fotografias dos hidrogéis H_5Q1GV produzidos no LABSMAC-UFCG onde pode-se observar o halo inibitório em 24 horas e 48 h de incubação sendo o grupo controle sem crescimento de halo significativo evidenciando o efeito antibacteriano do produto.

Figura 8 - Atividade antimicrobiana para o H_5Q_1GV: (a)após 24h de incubação e (b) após 48h de incubação. C+V - controle positivo; HG - hidrogel e C- controle negativo.



O resultado dos testes microbiológicos com o hidrogel evidenciam na figura 8 que a presença do halo mais claro ao redor da amostra HG não permitiu o crescimento das bactérias que dão a coloração mais opaca como na amostra controle negativo C- sendo esta a única que não apresenta halo transparente circundando. A amostra controle positiva que contém o antibiótico vancomicina C+ apresentou o halo translúcida indicando a efetividade do antibiótico liberado para não permitir o crescimento bacteriano, portanto embora tenho um halo um pouco menor o hidrogel H_5Q_1GV apresentou efeito bactericida similar ao controle carreado com vancomicina.

Tabela 4 - Resultado dos ensaios antimicrobianos com mensuração halos inibitórios.

Amostra	Diâmetro halo 24h	Diâmentro halo 48 h
Controle negativo C-	0	0
Controle positivo C+V	29 mm	30 mm
Hidrogel H_5Q1GV	22 mm	23 mm

A mensuração dos halos em relação ao tempo de incubação está apresentada na Tabela 5. Sendo um dos métodos mais confiáveis para a analisar a atividade antimicrobiana os resultados obtidos foram muito satisfatórios pois evidenciam halos do hidrogel de aproximadamente 22 mm, aproximando-se do disco padrão com vancomicina de 29mm, significa que o hidrogel possui efeito antimicrobiano eficaz contra a bactéria estudada.

O fármaco vancomicina foi introduzido no hidrogel e sua liberação avaliada na Tabela 5, expressa as porcentagens liberadas do fármaco do hidrogel nos intervalos de tempo de 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240 e 300 minutos.

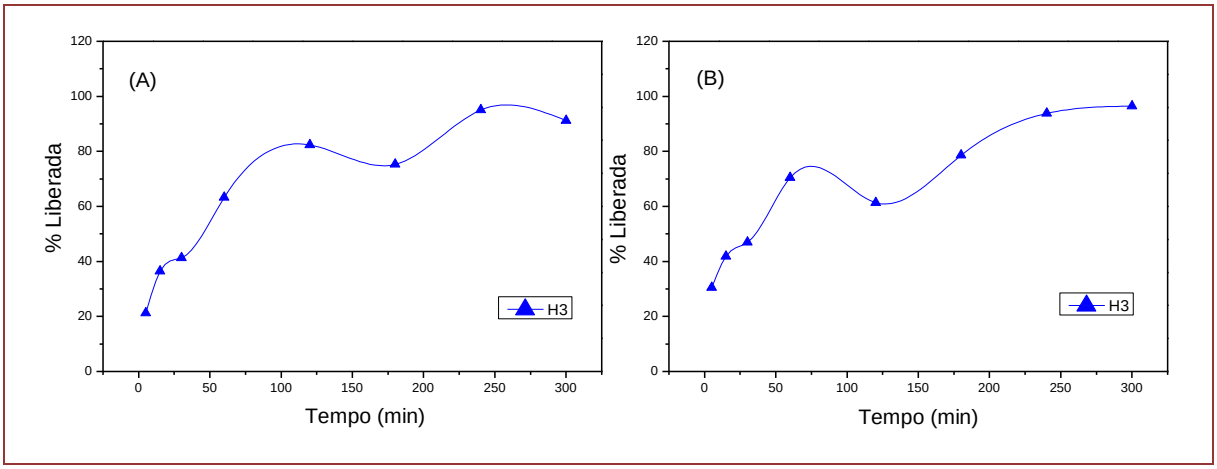
Tabela 5 - Percentual de liberação do fármaco vancomicina.

Tempo (min)	1ª Leitura	2ª Leitura
5	21,30	30,49
15	36,51	41,85
30	41,28	47,07
60	63,38	70,49
120	82,44	61,38
180	75,38	78,60
240	95,10	93,93
300	91,21	96,54

Pode-se observar que decorridos uma semana (7 dias) de armazenamento do hidrogel, a liberação do fármaco após os 300 minutos foi próxima indicando que não ocorreu degradação do fármaco em virtude do armazenamento nas condições realizadas no presente trabalho.

A Figura 9 ilustra o comportamento cinético das liberações do fármaco.

Figura 9 - Perfil cinético da liberação do fármaco vancomicina adsorvido nas matrizes do hidrogel R1, R2, R3; (A) 1° leitura (B) 2° leitura.



Pode-se observar na Figura 9 que o comportamento da liberação do fármaco foi similar independente da forma como foi adicionado, bem como, do período de armazenamento. Foi possível observar por meio dos perfis cinéticos de liberação do fármaco vancomicina que ocorreu inicialmente uma liberação mais rápida, nos 150 minutos, (2,5 h), e que logo após esse período, a liberação se tornou mais lenta até ao final do tempo observado de 300 min (5 h).

A literatura reporta que um sistema de liberação de fármaco ideal é aquele que fornece doses efetivas de fármaco ao local de tratamento, atuando de forma preventiva na proteção do biomaterial, evitando a adesão, a colonização, o biofilme, e posteriormente, a proliferação bacteriana, e que ao mesmo tempo possibilite uma liberação contínua em períodos prolongados, pois a formação de cápsulas fibrosas protetoras e a integração de

tecidos ocorrem em um período de tempo mais distante, semanas a meses, após a implantação do biomaterial (Liu *et al.*, 2002; Neufeld e Bianco-Peled, 2017; Wu e Grainger, 2006).

No tocante a citotoxicidade após a incubação de 24 h, o hidrogel H_5Q_1GV (LI) que não apresentou a formação de halos, resultado semelhante ao controle negativo.

Através do microscópio invertido, foram feitas fotos de uma região de cada poço das amostras analisadas, nos aumentos de 100X. A partir daí, foi constatado ausência de descoramento ao redor e sob as amostras evidenciando ausência de citotoxicidade (Grau 0) como mostrado na figura 10, qualificando a citotoxicidade da amostra como satisfatória de acordo com a ISO 10993–5 (2009).

Figura 10 - Imagens com 100X de aumento da linhagem celular L929 das zonas de descoloração de materiais experimentais no teste de difusão em ágar: controle positivo (látex tóxico) (A), controle negativo (PEAD) (B), amostra H_5Q_1GV-LI (C).

Com base nos resultados acima a engenharia de materiais cada vez mais está se debruçando em relação as melhorias no tocante aos avanços nos implantes ortopédicos e no LABSMAC-UFCG as linhas de pesquisa com hidrogel antibacteriano tem-se mostrado extremamente eficientes para ser utilizado nas cirurgias e minimizar os riscos e morbidade das infeções.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os hidrogéis H5Q1GV apresentaram um desempenho promissor como materiais terapêuticos, evidenciado por seu efeito antimicrobiano significativo, com halos inibitórios comparáveis ao controle positivo com vancomicina, demonstrando alta eficácia contra bactérias resistentes. A liberação do antibiótico foi gradual e estável ao longo do tempo, indicando sua adequação para tratamentos prolongados, como em implantes ortopédicos. Além disso, os testes de citotoxicidade confirmaram que o hidrogel é biocompatível e seguro para uso em tecidos vivos, conforme os padrões da ISO 10993-5. Essa eficácia na prevenção de infecções destaca o potencial do H5Q1GV para reduzir riscos e morbidade em cirurgias, tornando-o uma opção viável para implantes ortopédicos. Desenvolvido no LABSMAC-UFCG, este hidrogel antibacteriano demonstra a relevância das pesquisas em engenharia de materiais, promovendo inovação no campo médico, com foco em soluções para tratamentos cirúrgicos e terapias de implantes.

REFERÊNCIAS

[1] ARIZA, J.; EUBA, G.; MURILLO, Ó. Infecciones relacionadas con las prótesis articulares. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,** v. 26, n. 6, p. 380-390, 2008.

[2] BIAO, L.; TAN, S.; WANG, Y.; GUO, X.; FU, Y.; XU, F.; ZU, Y.; LIU, Z. Synthesis, characterization and antibacterial study on the chitosan-functionalized Ag nanoparticles. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 76, p. 73-80, 2017.

[3] BIRT, M. C.; ANDERSON, D. W.; BRUCE TOBY, E.; WANG, J. Osteomyelitis: Recent advances in pathophysiology and therapeutic strategies. **J Orthop,** v. 14, n. 1, p. 45-52, 2017.

[4] CAI, Y.; XU, K.; HOU, W.; YANG, Z.; XU, P. Preoperative chlorhexidine reduces the incidence of surgical site infections in total knee and hip arthroplasty: A systematic review and meta-analysis. **Int J Surg,** v. 39, p. 221-228, 2017.

[5] CARVALHO, C. R.; LOPEZ-CEBRAL, R.; SILVA-CORREIA, J.; SILVA, J. M.; MANO, J. F.; SILVA, T. H.; FREIER, T.; REIS, R. L.; OLIVEIRA, J. M. Investigation of cell adhesion in chitosan membranes for peripheral nerve regeneration. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 71, p. 1122-1134, 2017.

[6] CARVALHO, L. H. D.; TEMPONI, E. F.; BADET, R. Infecção em artroplastia total de joelho: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ortopedia,** v. 48, p. 389-396, 2013.

[7] CATS-BARIL, W.; GEHRKE, T.; HUFF, K.; KENDOFF, D.; MALTENFORT, M.; PARVIZI, J. International consensus on periprosthetic joint infection: description of the consensus process. **Clinical Orthopaedics and Related Research®,** v. 471, n. 12, p. 4065-4075, 2013.

[8] CHANG, T. Y.; CHEN, C. C.; CHENG, K. M.; CHIN, C. Y.; CHEN, Y. H.; CHEN, X. A.; SUN, J. R.; YOUNG, J. J.; CHIUEH, T. S. Trimethyl chitosan-capped silver nanoparticles with positive surface charge: Their catalytic activity and antibacterial spectrum including multidrug-resistant strains of Acinetobacter baumannii. **Colloids Surf B Biointerfaces,** v. 155, p. 61-70, 2017.

[9] CHIANG, Y.-C.; WANG, Y.-L.; LIN, P.-Y.; CHEN, Y.-Y.; CHIEN, C.-Y.; LIN, H.-P.; LIN, C.-P. A mesoporous biomaterial for biomimetic crystallization in dentinal tubules without impairing the bonding of a self-etch resin to dentin. **Journal of the Formosan Medical Association,** v. 115, n. 6, p. 455-462, 2016.

[10] COX, S. C.; JAMSHIDI, P.; EISENSTEIN, N. M.; WEBBER, M. A.; HASSANIN, H.; ATTALLAH, M. M.; SHEPHERD, D. E. T.; ADDISON, O.; GROVER, L. M. Adding functionality with additive manufacturing: Fabrication of titanium-based antibiotic eluting implants. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 64, p. 407-415, 2016.

[11] CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal,** v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013.

[12] FAN, M.; MA, Y.; TAN, H.; JIA, Y.; ZOU, S.; GUO, S.; ZHAO, M.; HUANG, H.; LING, Z.; CHEN, Y.; HU, X. Covalent and injectable chitosan-chondroitin sulfate hydrogels embedded with chitosan microspheres for drug delivery and tissue engineering. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 71, p. 67-74, 2017.

[13] FILIPOVIĆ, U.; DAHMANE, R. G.; GHANNOUCHI, S.; ZORE, A.; BOHINC, K. Bacterial adhesion on orthopedic implants. **Advances in Colloid Interface Science**, p. 102-228, 2020.

[14] FLOREA, D. A.; ALBULEȚ, D.; GRUMEZESCU, A. M.; ANDRONESCU, E. Surface modification–A step forward to overcome the current challenges in orthopedic industry and to obtain an improved osseointegration and antimicrobial properties. **Materials Chemistry and Physics,** v. 243, p. 122-579, 2020.

[15] GALLO, J.; HOLINKA, M.; MOUCHA, C. S. Antibacterial surface treatment for orthopaedic implants. **Int J Mol Sci,** v. 15, n. 8, p. 13849-80, 2014.

[16] GRASSO, P.; GAYDON, J.; HENDY, R. The safety testing of medical plastics. II. An assessment of lysosomal changes as an index of toxicity in cell cultures. **Food cosmetics toxicology,** v. 11, n. 2, p. 255-263, 1973.

[17] HE, M.; HAN, B.; JIANG, Z.; YANG, Y.; PENG, Y.; LIU, W. Synthesis of a chitosan-based photo-sensitive hydrogel and its biocompatibility and biodegradability. **Carbohydr Polym,** v. 166, p. 228-235, 2017.

[18] HOSSEINNEJAD, M.; JAFARI, S. M. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. **Int J Biol Macromol,** v. 85, p. 467-75, 2016.

[19] IDE, W.; FARRAG, Y. Natural Polymeric Materials as a Vehicle for Antibiotics. **Antibiotic Materials in Healthcare**, p. 51-64, 2020.

[20] IFTIME, M. M.; MORARIU, S.; MARIN, L. Salicyl-imine-chitosan hydrogels: Supramolecular architecturing as a crosslinking method toward multifunctional hydrogels. **Carbohydr Polym,** v. 165, p. 39-50, 2017.

[21] ISO, -. 10993-5: 2009 (E) Biological Evaluation of Medical Devices—Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity; 2009. 2009.

[22] JENNINGS, J. A.; BUMGARDNER, J. D. **Chitosan Based Biomaterials Volume 1: Fundamentals**. Woodhead Publishing, 2016. ISBN 0081002572.

[23] JEON, S. J.; MA, Z.; KANG, M.; GALVAO, K. N.; JEONG, K. C. Application of chitosan microparticles for treatment of metritis and in vivo evaluation of broad spectrum antimicrobial activity in cow uteri. **Biomaterials,** v. 110, p. 71-80, 2016.

[24] JIANG, Q.; ZHOU, W.; WANG, J.; TANG, R.; ZHANG, D.; WANG, X. Hypromellose succinate-crosslinked chitosan hydrogel films for potential wound dressing. **Int J Biol Macromol,** v. 91, p. 85-91, 2016.

[25] JÓŹWIAK, T.; FILIPKOWSKA, U.; SZYMCZYK, P.; RODZIEWICZ, J.; MIELCAREK, A. Effect of ionic and covalent crosslinking agents on properties of chitosan beads and sorption effectiveness of Reactive Black 5 dye. **Reactive and Functional Polymers,** v. 114, p. 58-74, 2017.

[26] KAMOUN, E. A.; KENAWY, E. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **J Adv Res,** v. 8, n. 3, p. 217-233, 2017.

[27] KAPADIA, B. H.; ELMALLAH, R. K.; MONT, M. A. A Randomized, Clinical Trial of Preadmission Chlorhexidine Skin Preparation for Lower Extremity Total Joint Arthroplasty. **J Arthroplasty,** v. 31, n. 12, p. 2856-2861, 2016.

[28] KHAN, M.; OSMAN, K.; GREEN, G.; HADDAD, F. The epidemiology of failure in total knee arthroplasty: avoiding your next revision. **The Bone Joint Journal,** v. 98, n. 1_Supple_A, p. 105-112, 2016.

[29] KIM, E. H.; HAN, G. D.; KIM, J. W.; NOH, S. H.; LEE, J. G.; ITO, Y.; SON, T. I. Visible and UV-curable chitosan derivatives for immobilization of biomolecules. **Int J Biol Macromol**, 2017.

[30] KUMAR, M.; KUMAR, R.; KUMAR, S. Coatings on orthopedic implants to overcome present problems and challenges: A focused review. **Materials Today: Proceedings,** v. 45, p. 5269-5276, 2021.

[31] LASKAR, K.; FAISAL, S. M.; RAUF, A.; AHMED, A.; OWAIS, M. Undec-10-enoic acid functionalized chitosan based novel nano-conjugate: An enhanced anti-bacterial/biofilm and anti-cancer potential. **Carbohydr Polym,** v. 166, p. 14-23, 2017.

[32] LIN, X.; YANG, S.; LAI, K.; YANG, H.; WEBSTER, T. J.; YANG, L. Orthopedic implant biomaterials with both osteogenic and anti-infection capacities and associated in vivo evaluation methods. **Nanomedicine,** v. 13, n. 1, p. 123-142, 2017.

[33] LIU, S. J.; WEN-NENG UENG, S.; LIN, S. S.; CHAN, E. C. In vivo release of vancomycin from biodegradable beads. **Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials,** v. 63, n. 6, p. 807-813, 2002.

[34] MI, F. L.; SUNG, H. W.; SHYU, S. S. Synthesis and characterization of a novel chitosan-based network prepared using naturally occurring crosslinker. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry,** v. 38, n. 15, p. 2804-2814, 2000.

[35] MISHRA, S. K.; FERREIRA, J. M.; KANNAN, S. Mechanically stable antimicrobial chitosan-PVA-silver nanocomposite coatings deposited on titanium implants. **Carbohydr Polym,** v. 121, p. 37-48, 2015.

[36] MOHAMED, R. R.; ELELLA, M. H.; SABAA, M. W. Cytotoxicity and metal ions removal using antibacterial biodegradable hydrogels based on N-quaternized chitosan/poly(acrylic acid). **Int J Biol Macromol,** v. 98, p. 302-313, 2017.

[37] MOURA, M. J.; BROCHADO, J.; GIL, M. H.; FIGUEIREDO, M. M. In situ forming chitosan hydrogels: Preliminary evaluation of the in vivo inflammatory response. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 75, p. 279-285, 2017.

[38] MOZALEWSKA, W.; CZECHOWSKA-BISKUP, R.; OLEJNIK, A. K.; WACH, R. A.; ULAŃSKI, P.; ROSIAK, J. M. Chitosan-containing hydrogel wound dressings prepared by radiation technique. **Radiation Physics Chemistry,** v. 134, p. 1-7, 2017.

[39] MUÑOZ-MUÑOZ, F.; CONTRERAS-GARCÍA, A.; BURILLO, G.; BUCIO, E. Radiación gamma para el diseño de sistemas inteligentes en liberación controlada de fármacos e ingeniería de tejidos. p. 485-519, 2015.

[40] NEUFELD, L.; BIANCO-PELED, H. Pectin–chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. **International journal of biological macromolecules** v. 101, p. 852-861, 2017.

[41] ORDIKHANI, F.; TAMJID, E.; SIMCHI, A. Characterization and antibacterial performance of electrodeposited chitosan-vancomycin composite coatings for prevention of implant-associated infections. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 41, p. 240-8, 2014.

[42] OSMANI, R. A. M.; SINGH, E.; JADHAV, K.; JADHAV, S.; BANERJEE, R. Biopolymers and biocomposites: Nature's tools for wound healing and tissue engineering. In: (Ed.). **Applications of Advanced Green Materials**: Elsevier, 2021. p. 573-630.

[43] PAWAR, V.; BULBAKE, U.; KHAN, W.; SRIVASTAVA, R. Chitosan sponges as a sustained release carrier system for the prophylaxis of orthopedic implant-associated infections. **International journal of biological macromolecules,** v. 134, p. 100-112, 2019.

[44] PERNI, S.; PROKOPOVICH, P. Chapter 5 - Nanostructured coatings for antimicrobial applications

[45] In: (Ed.). **Advances in Nanostructured Materials and Nanopatterning Technologies: Applications for Healthcare, Environmental and Energy** Elsevier, 2020. p. 115-140 ISBN 0128173130.

[46] QI, C.; ROGACHEV, A. V.; TAPAL'SKII, D. V.; YARMOLENKO, M. A.; ROGACHEV, A. A.; JIANG, X.; KOSHANSKAYA, E. V.; VORONTSOV, A. S. Nanocomposite coatings for implants protection from microbial colonization: Formation features, structure, and properties. **Surface and Coatings Technology,** v. 315, p. 350-358, 2017.

[47] RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.-T.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules,** v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.

[48] RABEA, E. I.; BADAWY, M. E.; STEVENS, C. V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. **Biomacromolecules,** v. 4, n. 6, p. 1457-65, 2003.

[49] RAPHEL, J.; HOLODNIY, M.; GOODMAN, S. B.; HEILSHORN, S. C. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. **Biomaterials,** v. 84, p. 301-14, 2016.

[50] RODRÍGUEZ-CONTRERAS, A.; GARCÍA, Y.; MANERO, J. M.; RUPÉREZ, E. Antibacterial PHAs coating for titanium implants. **European Polymer Journal,** v. 90, p. 66-78, 2017.

[51] ROMANO, C. L.; SCARPONI, S.; GALLAZZI, E.; ROMANO, D.; DRAGO, L. Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama. **J Orthop Surg Res,** v. 10, p. 157, 2015.

[52] SÁEZ, M. I.; VIZCAÍNO, A. J.; ALARCÓN, F. J.; MARTÍNEZ, T. F. Comparison of lacZ reporter gene expression in gilthead sea bream (Sparus aurata) following oral or intramuscular administration of plasmid DNA in chitosan nanoparticles. **Aquaculture,** v. 474, p. 1-10, 2017.

[53] SAPRU, S.; GHOSH, A. K.; KUNDU, S. C. Non-immunogenic, porous and antibacterial chitosan and Antheraea mylitta silk sericin hydrogels as potential dermal substitute. **Carbohydr Polym,** v. 167, p. 196-209, 2017.

[54] SEDGHI, R.; SHAABANI, A.; MOHAMMADI, Z.; SAMADI, F. Y.; ISAEI, E. Biocompatible electrospinning chitosan nanofibers: A novel delivery system with superior local cancer therapy. **Carbohydr Polym,** v. 159, p. 1-10, 2017.

[55] SILVA, F. C.; PARADELLA, T. C.; NAVAS, E. A. F.; CLARO, A. P. R.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. Influência de agentes desinfetantes sobre a aderência de Staphylococcus aureus em aço inoxidável. **Brazilian Dental Science,** v. 11, n. 3, 2010.

[56] SOLÉ, I.; VÍLCHEZ, S.; MIRAS, J.; MONTANYÀ, N.; GARCÍA-CELMA, M. J.; ESQUENA, J. DHA and l-carnitine loaded chitosan hydrogels as delivery systems for topical applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,** v. 525, p. 85-92, 2017a.

[57] _____. DHA and l -carnitine loaded chitosan hydrogels as delivery systems for topical applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,** v. 525, p. 85-92, 2017b.

[58] TALEBIAN, A.; MANSOURIAN, A. Release of Vancomycin from electrospun gelatin/chitosan nanofibers. **Materials Today: Proceedings,** v. 4, n. 7, p. 7065-7069, 2017.

[59] VASILIEVA, T.; SIGAREV, A.; KOSYAKOV, D.; UL'YANOVSKII, N.; ANIKEENKO, E.; CHUHCHIN, D.; LADESOV, A.; HEIN, A. M.; MIASNIKOV, V. Formation of low molecular weight oligomers from chitin and chitosan stimulated by plasma-assisted processes. **Carbohydr Polym,** v. 163, p. 54-61, 2017.

[60] WAHID, F.; WANG, H. S.; ZHONG, C.; CHU, L. Q. Facile fabrication of moldable antibacterial carboxymethyl chitosan supramolecular hydrogels cross-linked by metal ions complexation. **Carbohydr Polym,** v. 165, p. 455-461, 2017.

[61] WU, P.; GRAINGER, D. W. Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis. **Biomaterials,** v. 27, n. 11, p. 2450-2467, 2006.

[62] WU, S.; DONG, H.; LI, Q.; WANG, G.; CAO, X. High strength, biocompatible hydrogels with designable shapes and special hollow-formed character using chitosan and gelatin. **Carbohydr Polym,** v. 168, p. 147-152, 2017.

[63] XU, Y.; HAN, J.; LIN, H. Fabrication and characterization of a self-crosslinking chitosan hydrogel under mild conditions without the use of strong bases. **Carbohydr Polym,** v. 156, p. 372-379, 2017.

[64] YADOLLAHI, M.; FARHOUDIAN, S.; NAMAZI, H. One-pot synthesis of antibacterial chitosan/silver bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems. **Int J Biol Macromol,** v. 79, p. 37-43, 2015.

[65] YANG, Y.; YANG, S.-B.; WANG, Y.-G.; ZHANG, S.-H.; YU, Z.-F.; TANG, T.-T. Bacterial inhibition potential of quaternised chitosan-coated VICRYL absorbable suture: An in vitro and in vivo study. **Journal of Orthopaedic Translation,** v. 8, p. 49-61, 2017.

[66] YOUSAF, S. S.; HOUACINE, C.; KHAN, I.; AHMED, W.; JACKSON, M. J. Importance of biomaterials in biomedical engineering. In: (Ed.). **Advances in Medical and Surgical Engineering**: Elsevier, 2020. p. 151-177.

[67] ZUBAREVA, A.; SHAGDAROVA, B.; VARLAMOV, V.; KASHIRINA, E.; SVIRSHCHEVSKAYA, E. Penetration and toxicity of chitosan and its derivatives. **European Polymer Journal,** v. 93, p. 743-749, 2017.

Capítulo 10

Avaliação de compósitos de hidroxiapatita e nanopartículas de ferrita de cobalto para o uso como sistemas de liberação controlada de fármaco

Cristiane Carneiro Vital Cintra
Gabriela C L Evangelista
Emily Correna Carlo Reis
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Andrea Pacheco Batista Borges

Resumo: A necessidade de desenvolvimento de formas mais eficazes de tratamento de diversas enfermidades tem levado a pesquisas em várias áreas, como medicina, engenharia e odontologia. Apesar dos contínuos avanços, muitas doenças ainda são um desafio terapêutico, como é o caso da osteomielite e outras patologias ósseas. O uso de biomateriais implantados já vem sendo extensivamente pesquisado, e a utilização destes como carreadores de fármacos vem sendo vista como alternativa aos tratamentos sistêmicos em diversas patologias. Portanto, o entendimento de como os tecidos vivos respondem à implantação de diferentes compostos é essencial. Desta forma, o objetivo principal do trabalho apresentado neste capítulo, foi descrever os testes realizados em modelos experimentais de osteomielite, utilizando-se compósitos de hidroxiapatita associada à nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$), como sistema de liberação do antibiótico ciprofloxacina e avaliar sua eficiência. Foram utilizados compósitos preparados com hidroxiapatita comercial HAP-91®, fabricada na JHS Laboratório Químico, e hidroxiapatita sintetizada por precipitação, nanopartículas de $CoFe_2O_4$ sintetizadas por reação de combustão e o fármaco ciprofloxacina na concentração de 10%. A confirmação da eficácia do antibiótico em inibir o crescimento bacteriano da cepa utilizada na indução da osteomielite foi testada in vitro. Para os testes in vivo, foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia, aleatoriamente distribuídos em cinco grupos com tamanho amostral igual a 6. Em todos os animais foi produzido um orifício na metáfise proximal do úmero para inocular uma solução contendo *Staphilococcus aureus* no interior do canal medular. Após 15 dias da inoculação bacteriana, foi realizado o desbridamento e implantação óssea dos biomateriais em procedimento cirúrgico. Em um dos grupos nenhum tipo de biomaterial foi implantado, tendo sido usado como controle. Aos 42 dias após a implantação dos compósitos, foram feitas análises radiográficas das lesões e os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica para a coleta de material para estudo histológico e tomografia microcomputadorizada. Os testes realizados com os biomateriais, mostraram que estes são biocompatíveis, biodegradáveis e eficazes como carreadores de drogas. O quadro de infecção óssea foi induzido com sucesso nos animais, e os biomateriais exerceram efeito benéfico no quadro infeccioso e na regeneração óssea.

Palavras-chave: Biomateriais, Regeneração Óssea, Osteomielite.

1. INTRODUÇÃO

Biomateriais são substâncias de origem natural ou sintética, utilizadas em aplicações biomédicas e que interagem com sistemas biológicos, tratando, aumentando ou substituindo tecidos, órgãos ou restaurando funções comprometidas por processos degenerativos ou traumatismos (Von Recum; Laberge, 1995). Por sua importância na área médica, o desenvolvimento de novos tipos de biomateriais tem tido destaque, alavancando os estudos relacionados à engenharia tecidual ou bioengenharia, que se utiliza de conhecimentos nas áreas de ciência dos materiais, biologia, química, medicina e engenharia para desenvolver novos produtos que restauram, mantenham ou melhorem a função tecidual (Guo *et al.*, 2015; Saulacic *et al.*, 2021; Iftikhar *et al.*, 2021).

Na ortopedia e odontologia, a utilização de biomateriais no reparo de partes danificadas do osso vem sendo cada vez mais importante (Campana *et al.*, 2014; Parent *et al.*, 2017; Saulacic *et al.*, 2021), possibilitando a redução do uso de enxertos, tanto alógenos, quanto autógenos (Chiarello *et al.*, 2013; Chow, 2020). Uma grande vantagem no uso de biomateriais é que eles também podem agir como carreadores de fármacos, permitindo a liberação da droga diretamente no tecido lesionado (Kumar; Govindan; Girija, 2014; Cintra *et al*; 2022). Dentre os vários materiais utilizados na atualidade, a hidroxiapatita (HAP) vem se destacando por se tratar de uma material biocompatível e bioativo, ou seja, capaz de se ligar ao osso, permitindo o crescimento e diferenciação celular (Borges *et al.*, 2000; Sarath Chandra *et al.*, 2013; Parent *et al.*, 2017; Cintra *et al.*, 2022).

Assim como a HAP, as nanopartículas magnéticas (NPMs) também podem agir como transportadores de fármacos, sendo que em alguns casos, estas atuam promovendo sua liberação controlada no local da lesão através do uso de campo magnético (Gopi *et al.*, 2012; Sahmani *et al.*, 2020). A síntese de NPMs para aplicações biomédicas tem despertado a atenção nos últimos anos, especialmente em função das propriedades físicas e químicas que estes materiais apresentam (Abudayyak; Altincekic Gurkaynak; Özhan, 2017; Maksoud *et al.*, 2019; Sahmani *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022).

A incorporação de fármacos em biomateriais implantáveis e biodegradáveis apresenta a vantagem da liberação da droga diretamente no tecido alvo, sendo uma alternativa ao reduzido efeito terapêutico da administração parenteral de fármacos em locais pouco vascularizados, além de não requererem posterior cirurgia para remoção do material após a liberação da droga (Cintra *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022). Sendo um material biocompatível, a HAP unida às nanopartículas magnéticas, forma um promissor dispositivo, com o potencial para ser usado no tratamento de enfermidades ósseas, como a osteomielite (Araújo *et al.*, 2018, Cintra *et al*, 2022).

A terapia de osteomielite representa um problema desafiador na medicina, já que apesar dos contínuos avanços nas técnicas de cirurgias ortopédicas e no tratamento, continua sendo uma patologia comum e que exige tratamento farmacológico prolongado. Essa enfermidade ocorre, muitas vezes, após infecções traumáticas ou em combinação com fatores predisponentes (Schlickewei; Yarar; Rueger, 2014; Campbell *et al.*, 2023). O tratamento da osteomielite pode ser bastante agressivo ao organismo, podendo haver a necessidade de altas doses de antibiótico, por um longo tempo, e de ressecções cirúrgicas extensas, o que justifica as pesquisas de novas formas de tratamento.

A proposta do trabalho apresentado neste capítulo, foi descrever a eficácia de biomateriais constituídos de hidroxiapatita e nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) como um sistema de liberação controlada de drogas no tratamento da

osteomielite, promovendo também uma regeneração óssea em menor tempo. Com isso, se tem uma alternativa segura e eficaz para o tratamento da doença, inclusive na espécie humana, onde essa enfermidade ocorre com maior frequência.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. BIOMATERIAIS NA REGENERAÇÃO ÓSSEA

O desenvolvimento de biomateriais tem sido de grande importância na cirurgia ortopédica, inclusive com o objetivo de minimizar o uso de enxertos, tanto alógenos, quanto autógenos. A coleta de osso autógeno danifica partes saudáveis do corpo e a quantidade que se consegue coletar é limitada. Além disso, este tipo de procedimento aumenta o tempo anestésico e cirúrgico, trazendo, portanto, mais riscos para o paciente. O uso de enxertos alógenos, assim como os xenoenxertos, aumentam os riscos de infecção podendo ocorrer rejeição do implante e em adição a isso, a quantidade de osso alogênico disponível é limitada (Kokubo; Kim; Kawashita, 2003; Chow *et al.*, 2020; Saulacic *et al.*, 2021). Os materiais sintéticos apresentam a grande vantagem de serem disponibilizados comercialmente e podem, ainda, no caso de materiais biodegradáveis, serem facilmente degradados e absorvidos, ao mesmo tempo em que permitem e/ou estimulam a formação óssea (Chiarello *et al.*, 2013; Campana *et al.*, 2014; Chow *et al.*, 2020; Saulacic *et al.*, 2021).

Algumas particularidades devem ser levadas em conta ao se desenvolver um substituto ósseo, e estas direcionam para quais características o biomaterial deve ter para ser usado com esta finalidade. As propriedades mais desejáveis são biocompatibilidade, capacidade de estimular a osteogênese, e composição e propriedades mecânicas semelhantes às do osso; em resumo, o biomaterial deve imitar o osso natural (Chiarello *et al.*, 2013; Campana *et al.*, 2014; Saulacic *et al.*, 2021). Além disso, é desejável que esses materiais sejam absorvíveis, com degradação e taxa de absorção controláveis (Dorati *et al.*, 2017; Saulacic *et al.*, 2021; Cintra *et al.*, 2022).

Materiais artificiais implantados em defeitos ósseos são geralmente encapsulados por tecido fibroso e se tornam isolados do osso circunvizinho. Consequentemente, eles não se aderem ao osso, podendo ocorrer até mesmo o deslocamento do implante (Kokubo; Kim; Kawashita, 2003; Saulacic *et al.*, 2021). Este problema tem sido solucionado através do uso de cerâmicas bioativas (biocerâmicas) que espontaneamente se ligam ao osso (Kokubo; Kim; Kawashita, 2003; Chow, 2009; Saulacic *et al.*, 2021).

2.1.1. HIDROXIAPATITA (HAP)

O grupo dos biomateriais que mais se assemelham à composição do osso é o grupo das cerâmicas de fosfato de cálcio, dentre as quais a mais difundida é a hidroxiapatita. Essa é um dos mais importantes compostos de cálcio para a aplicação biológica, visto que pode ser encontrada em tecidos duros naturais (ossos, dentes, corais) como uma fase mineral. Ela age como um reforço nestes tecidos e é responsável pela sua rigidez (Kumar; Govindan; Girija, 2014; Sadetskaya, *et al.*, 2021; Obada *et al.*, 2023).

A hidroxiapatita sintética tem sido estudada por se tratar de uma substância bioativa que provoca pouca reação tecidual (Borges *et al.* 2000; Kokubo; Kim; Kawashita, 2003; Sadetskaya, *et al.*, 2021) e é biocompatível com o osso, pelo fato de possuir a mesma estrutura química (Sadetskaya, *et al.*, 2021; Obada *et al.*, 2023; Niziolek *et al.*, 2023). Essa similaridade nas características químicas e físicas do osso é uma das maiores vantagens

dos materiais de fosfato de cálcio. Juntamente com a boatividade, que é a habilidade do material formar uma ligação direta e forte com o tecido ósseo, além da osteocundução, que é a capacidade de prover um molde para a formação de osso novo.

A estrutura porosa da HAP funciona como um suporte passivo para a neoformação vascular (angiogênese) e parece fornecer um substrato adicional à proliferação do tecido ósseo (Vital *et al.*, 2008; Obada *et al.*, 2023), permitindo a junção, proliferação, migração e expressão fenotípica de células ósseas, o que resulta em formação de novo osso, em oposição direta ao biomaterial (Vital *et al.*, 2006; Niziolek *et al.*, 2023).

2.1.2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS (NPMS) DE FERRITA DE COBALTO

Nanotecnologia é o nome dado ao processo de desenvolvimento e produção de estruturas, dispositivos e sistemas controlando forma, tamanho e design em escala nanométrica. O desenvolvimento e o avanço nessa área vêm aumentando gradativamente graças às propriedades físicas, químicas e biológicas que estas partículas apresentam (Devanand Venkatasubbu *et al.*, 2011). Devido à grande relação superfície/volume, eles são vantajosos para anexar moléculas de drogas e outros compostos (De Jong; Borm, 2008; Devanand Venkatasubbu *et al.*, 2011; Sahmani *et al.*, 2020). Devido à drástica redução de tamanho, as propriedades magnéticas intrínsecas das nanopartículas (NPs) diferem daquelas dos mesmos materiais em escala macroscópica. Além disso, novas propriedades surgem na escala nanométrica, fenômenos como, por exemplo, o superparamagnetismo (Gupta; Kompella, 2006; Abdollahiyan *et al.*, 2021).

NPs de óxido de ferro, ou ferritas, como a magnetita (Fe_3O_4) e a ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$), são as mais comumente empregadas para aplicações biomédicas por serem biocompatíveis e de baixa toxicidade no corpo humano (Abdollahiyan *et al.*, 2021). Por possuírem características magnéticas, especificamente, por serem superparamagnéticas, podem ser manipuladas pela aplicação de campos magnéticos (Elias; Tsourkas, 2009; Araújo *et al.*, 2018; Abdollahiyan *et al.*, 2021; Qiao *et al*, 2023). Isso significa que elas têm uma alta susceptibilidade magnética positiva, mas na ausência de um campo magnético não exibem remanência magnética (não apresentam magnetização espontânea) (Elias; Tsourkas, 2009; Abdollahiyan *et al.*, 2021; Qiao *et al*, 2023).

Para aplicações em biomedicina, as NPMs também podem ser biofuncionalizadas com moléculas biologicamente ativas, como hormônios e anticorpos, ou mesmo fármacos. O fator mais importante que influencia a aplicabilidade destas partículas magnéticas é a ligação bem-sucedida destas biomoléculas (Mohapatra *et al.*, 2007; Sahmani *et al.*, 2020; Qiao *et al.*, 2023).

Especificamente com relação à tecnologia de sistemas de liberação controlada de drogas (DDS), devido à sua versatilidade em atingir tecidos alvo e controlar a velocidade de liberação da droga, as nanopartículas estão ajudando a alavancar o desenvolvimento de sistemas de DDS cada vez mais eficazes (Gupta; Kompella, 2006; Sahmani *et al.*, 2021). Os medicamentos são efetivamente “entregues” por nanopartículas porque devido ao seu tamanho, elas são absorvidas pelas células, penetrando profundamente nos tecidos através de capilares finos e cruzando a fenestração presente no revestimento epitelial (Devanand Venkatasubbu *et al.*, 2011; Ziqi Li *et al.*, 2023).

A $CoFe_2Co_4$ possui excelente estabilidade química e física, sendo resistente ao desgaste e permitindo controle preciso sobre sua composição e estrutura durante sua manipulação. O sucesso de sua aplicação prática depende dessas propriedades (Amiri;

Shokrollahi, 2013; Di Guglielmo *et al.*, 2010; Weißpflog *et al.*, 2024). Sua estabilidade, toxicidade moderada e uma pequena porcentagem de liberação de cobalto durante um período de 30 dias *in vitro* tornam este tipo de material adequado para aplicações médicas. (Kramer; Itzkowitz; Wei, 2014). Além dessas características, a $CoFe_2Co_4$ possui excelente solubilidade em água, estabilidade em pH fisiológico, e comportamento magnético adequado para uso em biossensores (Mohapatra *et al.*, 2007; Di Guglielmo *et al.*, 2010; Weißpflog *et al.*, 2024).

Nas aplicações médicas, as nanopartículas de ferrita de cobalto podem ser revestidas para garantir a estabilidade coloidal e superfícies funcionais. O encapsulamento por sílica, por exemplo, é usado para prevenir ou minimizar intoxicação por vazamento dos íons de cobalto (Digigow *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018; Ziqi Li *et al.*, 2023). O revestimento é útil para conferir mais estabilidade e biocompatibilidade e também para evitar a oxidação das nanopartículas (Souza; Ardisson; Sousa, 2009; Di Guglielmo *et al.*, 2010; Digigow *et al.*, 2014). Os nanocompósitos de sílica/ferritas são particularmente interessantes, pois a camada protetora proporcionada pela sílica pode impedir a atração magnética dipolar entre as partículas das ferritas e, consequentemente, proporcionar uma dispersão de partículas bastante uniforme (Souza; Ardinson; Sousa, 2009; Araújo *et al*, 2018; Ziqi li *et al.*, 2023).

Além disso, diversos estudos têm reportado atividade antimicrobiana *in vitro* relacionada à essas nanopartículas. Tran *et al.* (2011), relataram atividade antimicrobiana de NPMs de óxido de ferro contra *S. aureus*, provavelmente relacionada à geração de espécies reativas de oxigênio no interior da bactéria. Em um estudo de 2018, Ramanavičius *et al.*, comprovaram a atividade antimicrobiana de NPMs de $CoFe_2O_4$ especificamente contra *S. aureus*, sendo que descreveram esta atividade em função do íon Co^{2+}. Cintra *et al.* (2022) demonstraram que um compósito constituído de HAp e NPMs de $CoFe_2O_4$ foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus in vitro*.

2.2. RESPOSTAS CELULARES A IMPLANTAÇÃO DE BIOMATERIAIS NO TECIDO ÓSSEO

A perda óssea continua sendo um grande desafio na cirurgia e, atualmente, muitas alternativas estão disponíveis. Apesar do aprimoramento da pesquisa, os enxertos ósseos humanos persistem como os substitutos ósseos mais eficazes para substituir a perda óssea. O desenvolvimento de novos biomateriais para dispositivos biomédicos e construtos de engenharia de tecidos requer um conhecimento profundo das respostas biológicas aos materiais implantados (Reis *et al.*, 2012; Cintra et al, 2022).

O crescimento tecidual na interface de uma estrutura implantada é um fenômeno altamente complexo que envolve uma variedade de fatores, abrangendo uma cascata de eventos biológicos celulares e extracelulares (Arabnejad *et al.*, 2015; Martinez *et al.*, 2020). As interações sangue/biomaterial começam a ocorrer imediatamente após a implantação, com adsorção de proteínas na superfície do biomaterial e o desenvolvimento de uma matriz provisória à base de sangue (trombo inicial na interface tecido/material) que se forma sobre e ao redor do biomaterial (Gretzer *et al.*, 2006; Gui *et al.* 2017; Saulacic *et al.*, 2021). Quando implantado nos tecidos, o biomaterial sempre incitará a resposta imune celular, mesmo sendo biocompatível. A matriz provisória, juntamente com as células recrutadas para esse processo, produzirão citocinas, incluindo interleucinas e fator de necrose tumoral-α (TNF-α), que estão envolvidos na regulação da resposta imune e também na cicatrização de feridas (Gretzer *et al.*, 2006; Saulacic *et al.*, 2021).

Dentre os fatores relacionados ao crescimento tecidual sobre um material implantado, alguns estão relacionados ao material em si, e incluem sua microarquitetura (existência ou não de poros, densidade relativa), propriedades mecânicas do material de base, topografia e rugosidade, tanto em escala macro, quanto micro e nanométrica (Arabnejad *et al.*, 2015; Kadkhodapour *et al.*, 2015; Veiseh *et al.* 2015; Abdollahiyan *et al.*, 2021). Segundo Gittens *et al.* (2011), Reis *et al.* (2012), Lee *et al.* (2018) e Saulacic *et al.* (2021) as características topográficas da superfície do biomaterial influenciam diretamente o comportamento das células responsáveis pela reparação tecidual através de vias de sinalizações intracelulares mediadas pela adesão focal destas. Ainda de acordo com Lee *et al.* (2018), a orientação arquitetônica da matriz extracelular natural regula vários comportamentos celulares, como capacidade de migração, adesão e proliferação mudando o citoesqueleto através da reorganização dos filamentos de actina quando as células se aderem a ela. Consequentemente, muitos estudos no campo da engenharia tecidual têm sido conduzidos na direção de mimetizar a matriz extracelular de vários tipos teciduais, como osso, pele, vasos sanguíneos e músculos.

Com relação ao tecido ósseo especificamente, uma estrutura com poros interconectados é crítica para mimetizar a matriz óssea extracelular (Carlo *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2016; Obada *et al.*, 2023). O tamanho e a quantidade dos poros, além da interconectividade entre eles, determina o desempenho do material em funções como fixação das células e difusão de nutrientes. Estes fatores se relacionam diretamente com o crescimento de tecido mole e ósseo e, também, com a resistência da interface osso-implante (Arabnejad *et al.*, 2015; Kadkhodapour *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2016; Obada *et al.*, 2023). Segundo Arabnejad *et al.* (2015), para um crescimento ósseo satisfatório, a porosidade do biomaterial deve ser superior à 50%, e o tamanho dos poros entre 50 e 800 µm. Porém, é de amplo conhecimento, que o aumento na porosidade do implante leva a uma diminuição de sua resistência mecânica, embora seja benéfica para o crescimento tecidual (Kadkhodapour *et al.*, 2015; Obada *et al.*, 2023). Estabilidade mecânica adequada é mandatória para a obtenção do suporte mecânico necessário durante o processo de reparo e regeneração óssea (Kim *et al.*, 2016). A necessidade de estabilidade nos leva a observar que o design do implante e as características de superfície do arcabouço (scaffold), influenciam diretamente a aplicação ou o uso do biomaterial, que pode ser necessário de forma transitória (materiais absorvíveis) ou permanente (Costa *et al.*, 2013; Sadetskaya *et al.*, 2021; Obada *et al.*, 2023). Como citado anteriormente, essas características são de extrema importância na diferenciação e comportamento celular já que os tecidos biológicos irão interagir principalmente com a superfície do implante (Reis *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2013; Gui *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2018; Sadetskaya *et al.*, 2021).

A interface entre a superfície de um implante poroso e as células determina o comportamento celular, como adesão, disseminação e proliferação (Zhang *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2016; Martinez *et al.* 2020). Assim sendo, bastante atenção vem sendo dada à engenharia de tecidos, que procura desenvolver materiais como os arcabouços ou scaffolds feitos de material biocompatível, como a hidroxiapatita, materiais à base de colágeno, biovidros, dentre outros, que se ligam mecanicamente ao tecido hospedeiro (Borges *et al.*, 2000; Carlo *et al.*, 2007; Kadkhodapour *et al.*, 2015; Martinez *et al.*, 2020).

Como qualquer tecido do organismo, o osso irá reagir ao implante, e portanto a biocompatibilidade é um fator essencial, além da bioatividade, que é a capacidade do osso formar uma ligação direta com o biomaterial (Cintra *et al.*, 2022). Um fator de relevância na osseointegração de um implante é a habilidade do material em prover um aporte suficiente de nutrientes e oxigênio para o local de implantação (Klenke *et al.* 2007; Spiller

et al., 2015; Lee *et al.*, 2018). Isso quer dizer que idealmente, o implante deve ser capaz de promover o crescimento interno de vasos sanguíneos do tecido circundante do hospedeiro, conectando a estrutura do implante à vasculatura do hospedeiro (Spiller *et al.*, 2015; Saulacic *et al.*, 2021). Uma vascularização funcional é necessária para a formação óssea e a substituição dos biomateriais por tecido ósseo (Klenke *et al.* 2007; Lee *et al.*, 2018; Saulacic *et al.*, 2021). Além de apoiar a viabilidade celular, o crescimento de novos vasos sanguíneos também é fundamental para estimular a osteogênese (Borges *et al.*, 2000; Vital *et al.*, 2006; Spiller *et al.*, 2015; Saulacic *et al.*, 2021). É bem conhecido que os substitutos ósseos porosos permitem o crescimento interno dos vasos e, portanto, facilitam a osteogênese (Klenke *et al.*, 2008; Arabnejad *et al.*, 2016; Saulacic *et al.*, 2021).

Para uma osseointegração ideal, os substitutos ósseos não devem apenas facilitar o crescimento interno de vasos e tecido ósseo, mas também servir como uma estrutura mecanicamente estável para esses processos. Dentre outros fatores, a porosidade e o tamanho dos poros têm importante influência na estabilidade mecânica dos biomateriais. Embora poros maiores sejam melhores para crescimento interno vascular e formação óssea, eles comprometem a estabilidade mecânica (Klenke *et al.*, 2008; Kadkhodapour *et al.*, 2015; Arabnejad *et al.*, 2016; Saulacic *et al.*, 2021).

Sabe-se que as células osteoblásticas se aderem mais rapidamente em superfícies rugosas, nas quais a síntese da matriz extracelular é mais acentuada do que em superfícies lisas (Gittens *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2013; Arabnejad *et al.*, 2015; Saulacic *et al.*, 2021). Já a porosidade do material está relacionada com a maior ou menor fixação do implante no osso, já que seu tamanho e quantidade afeta a angiogênese e a invasão do implante por células osteogenitoras como descrito acima (Arabnej Kadkhodapour *et al.*, 2015; Veiseh *et al.*, 2015; Saulacic *et al.*, 2021; Niziolek *et al.*, 2023). O recrutamento e migração de uma população de células potencialmente osteogênicas é o primeiro passo para promover a formação do osso na superfície do implante (Kopf *et al.*, 2015; Martinez *et al.*, 2020; Saulacic *et al.*, 2021). Dependendo da morfologia da superficie do implante, no primeiro dia da implantação, células mesenquimais, pré-osteoblastos e osteoblastos se aderem à superfície do mesmo (Kopf *et al.*, 2015; Martinez *et al.* 2020), já que dependendo das características da superfície do implante, as células podem assumir diferentes fenótipos. Um mesmo padrão de rugosidade, porém em tamanhos diferentes, leva a respostas celulares diferentes (Martinez *et al.*, 2020).

Não somente os osteoblastos, mas também os osteoclastos desempenham um papel na cicatrização óssea, desenvolvimento e remodelação e suas atividades complementares são importantes na interação osso-biomaterial (Costa *et al.*, 2013; Martinez *et al.*, 2020). Além disso, para muitas aplicações, seria benéfico identificar as características de superfície que seriam ideais para promover a formação óssea pelos osteoblastos, suprimindo a atividade reabsortiva dos osteoclastos. Se o biomaterial for usado como um substituto sintético do osso, a taxa de degradação deve ser comparável à do osso. Porém, se a aplicação pretendida for um implante permanente, a taxa de reabsorção deve ser minimizada (Costa *et al.*, 2013; Abdollahiyan *et al.*, 2021). Um material bioativo ideal para substituição óssea deve ser capaz de ser reabsorvido e substituído por osso novo, antes de ter sua estabilidade comprometida. Em outras palavras, o material ideal de substituição óssea deve ser osteoindutor, osteocondutor e só permanecer no corpo o tempo necessário para substituir o defeito por osso neoformado (Vital *et al.*, 2006; Abdollahiyan *et al.*, 2021).

A reabsorção de materiais cerâmicos por atividade osteoclástica ocorre de forma semelhante à reabsorção óssea (Costa *et al.*, 2013; Abdollahiyan *et al.*, 2021). Costa *et al.*

(2013), observaram que a topografia de superfície também afeta a atividade dos osteoclastos, sendo observada maior atividade destes em superfícies mais lisas. Neste estudo também se observou que a topografia afeta a capacidade do osteoclasto reabsorver a hidroxiapatia, já que não observaram poços de reabsorção osteoclástica no material mais rugoso. Aparentemente, a superfície mais lisa é um facilitador da ligação dessas células com o biomaterial.

Portanto, o biomaterial ideal deve proporcionar um ambiente biomimético para garantir a sobrevivência das células e também direcionar a migração celular, de modo a que as células relevantes migrem e consigam aderir ao implante, garantindo assim a sua eficácia. O tipo de resposta celular e tecidual aos biomateriais implantados depende destes, sendo que a superfície desempenha um papel de extrema importância. Assim, a manipulação das características da superfície dos implantes tem sido cada vez mais alvo de investigação, com o objetivo de melhorar ao máximo o desempenho dos biomateriais nos vários tecidos em que são utilizados.

2.3. LIBERAÇÃO CONTROLADA DE DROGAS NO TRATAMENTO DA OSTEOMIELITE

Infecções ósseas prolongadas são caracterizadas como osteomielite crônica. Ao atingir um estado crônico, a infecção muitas vezes requer uma ressecção cirúrgica radical, e isso leva em muitos casos a uma grande perda de osso e tecido mole. Além disso, a ressecção inadequada de tecido infectado aumenta a taxa de reinfecção (Kumar; Govindan; Girija, 2014; Schlickewei; Yarar; Rueger, 2014; Zelmer *et al.*, 2022).

A terapia antibiótica sistêmica tem a desvantagem da necessidade de tratamento em longo prazo devido à incapacidade de criar uma elevada concentração local da droga e o risco resultante de toxicidade. A vascularização prejudicada do osso infectado torna necessário o uso de doses mais elevadas, aumentando as desvantagens. Como consequência, a liberação direta da droga no local poderia constituir uma abordagem mais efetiva e menos onerosa para a terapia de doenças ósseas (Devanand Venkatasubbu *et al.*, 2011; Kumar; Govindan; Girija, 2014; Zelmer *et al.*, 2022).

Diversos estudos vêm sendo conduzidos desde o século passado, sobre materiais poliméricos para o carreamento de drogas (Graham; Wood, 1978; Winkler, 2017, Niziolek *et al.*, 2023). Diversos tipos de materiais poliméricos já foram testados na terapia da osteomielite via DDS, tanto polímeros naturais, como sintéticos (Schlickewei; Yarar; Rueger, 2014; Dorati *et al.*, 2017; Winkler, 2017). Polímeros naturais, como o colágeno, ácido hialurônico e quitosana possuem boa compatibilidade, porém apresentam risco de rejeição do implante, além de possuírem pouca resistência mecânica. Polímeros sintéticos, como o ácido polilactico (PLA) e ácido poliglicólico (PLGA) são mais versáteis, podendo ter suas características manipuladas para melhor se adequarem à função que devem desempenhar (Birt *et al.*, 2017; Dorati *et al.*, 2017).

Além dos polímeros, trabalhos com experimentos em animais mostraram que sistemas de liberação de drogas suportadas em biocerâmicas é promissor para o controle de infecções ósseas (Kumar; Govindan; Girija, 2014; Iftikhar *et al.*, 2020).

Tanto polímeros, quanto cerâmicas e mais recentemente, materiais nanoparticulados vêm sendo usados e pesquisados para a terapia da osteomielite, principalmente dos quadros crônicos, proporcionando uma grande revolução no tratamento dessa doença (Dorati *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018; Iftikhar *et al.*, 2020). Para um biomaterial ser usado no tratamento da osteomielite, ele deve proporcionar a

liberação de uma grande quantidade de medicamento inicialmente, seguida por um longo período de liberação lenta (Winkler, 2017; Masters *et al.*, 2019). Idealmente, um perfil bifásico de liberação deve ser alcançado, consistindo em uma dispensação de medicamento em bolus para atingir imediatamente altas concentrações de antibióticos e assim erradicar qualquer bactéria, seguido por uma liberação sustentada de droga acima da concentração inibitória mínima (MIC) que irá matar qualquer bactéria remanescente (ou seja, bactérias emergindo de biofilmes) (Masters *et al.*, 2019; Gimza & Cassat, 2021).

Dentre os vários antibióticos citados na literatura para uso em DDS, a ciprofoxacina é preferida para o tratamento da osteomielite, uma vez que sua concentração inibitória mínima (MIC) é baixa (0,25–2 μg ml $^{-1}$) para a maioria dos patógenos que causam osteomielite (Kumar; Govindan; Girija *et al.*, 2014; Zelmer *et al.*, 2022), sendo portanto, necessárias menores doses para o tratamento da doença.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos adotados neste trabalho estão de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário e com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a legislação vigente. A metodologia foi aprovada pela Comissão de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV).

3.2. BIOMATERIAL

- Nanopartículas magnéticas (MNPs) de ferrite de cobalto (CoFe2O4) obtidas pela técnica de reação de combustão em lotes de 10g de produto/reação.
- Hidroxiapatita (HAp) obtida através do processo de precipitação e calcinada a 900°C conforme descrito em Araújo *et al.*, 2018.
- Hidroxiapatita comercial produzida pelo laboratório JHS Ltda (HAP 91®).

Todos os biomateriais utilizados neste trabalho, foram caracterizados e testados *in vivo* a fim de comprovar sua biocompatibilidade. Os resultados destes testes estão descritos em nossos trabalhos publicados anteriormente (Araújo *et al.*, 2018; Cintra *et al.*, 2022). As diferentes composições e proporções mássicas dos biomateriais utilizados estão descritas na Tabela 1. Todos os biomateriais foram preparados no Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LABSMAC) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Tabela 1 - Biomateriais utilizados e suas composições

Códigos	Amostras (Híbridos)	Concentração (Proporção mássica%)	M(g) de HAP	M(g) $CoFe_2O_4$	© (g)	MT (g)
HCo©	HAP:$CoFe_2O_4$+©	HAP:$CoFe_2O_4$ (70:30)	17,5	7,5	2,5	27,5
JCo©	HAP JHS:$CoFe_2O_4$+©	HAP JHS:$CoFe_2O_4$ (70:30)	12,6	5,4	1,8	19,8
Co©	$CoFe_2O_4$+©	-	-	25,0	2,5	27,5
HCo	HAP:$CoFe_2O_4$	HAP:$CoFe_2O_4$ (70:30)	11,2	4,8	-	16,0

M(g) de HAP: massa em grama de hidroxiapatita; M(g) $CoFe_2O_4$: massa em grama de ferrita de cobalto; ©:fármaco ciprofloxacina em gramas (g); MT: massa total em gramas (g); HAP$CoFe_2O_4$©: hidroxiapatita sintética, ferrita de cobalto e ciprofloxacina (LABSMAC); HAPJHS$CoFe_2O_4$©: hidroxiapatita sintética, ferrita de cobalto e ciprofloxacina (JHS); $CoFe_2O_4$©: ferrita de cobalto e ciprofloxacina (LABSMAC); HAP$CoFe_2O_4$: hidroxiapatita e ferrita de cobalto (LaBSMaC).

3.3. TRATAMENTOS

Para a realização do presente estudo, foram utilizados 30 coelhos da raça Nova Zelândia, previamente submetidos a indução experimental de um quadro de osteomielite crônica. Para tanto, foi utilizada uma cepa de *Staphylococcus aureus*, com virulência comprovada e cultivada conforme o descrito por Smeltzer *et al.* (1997) e Gaudin *et al.* (2011) e inoculada no interior da porção cranial da metáfise do canal medular do úmero direito. Para a inoculação da cultura bacteriana, foi produzido um orifício córtico-medular na metáfise utilizando-se uma broca trefina de 4,0 mm de diâmetro. Este orifício foi produzido não somente para a inoculação bacteriana, mas também para servir como um modelo de falha óssea, com o intuito de se avaliar o processo de reparação do osso e sua interação com os biomateriais implantados.

A confirmação da ocorrência de osteomielite se deu pela avaliação das imagens obtidas à radiologia, 15 dias após o procedimento cirúrgico de indução da doença, demonstrando alteração da densidade do osso, a qual foi determinada por densitometria óssea e também por meio de exames clínicos e radiográficos. Além disso, foi realizado o isolamento da bactéria no local em que foi inoculada, com sua posterior identificação em laboratório.

Após a confirmação do sucesso da indução da osteomielite, todos os animais foram encaminhados ao centro cirúrgico para a instituição dos tratamentos. Para os procedimentos cirúrgicos, os animais foram devidamente sedados, tricotomizados e anestesiados seguindo os métodos mais adequados para a espécie. O protocolo anestésico utilizado está descrito em Cintra *et al.*, (2022). Os animais foram então divididos em cinco grupos, sendo que em um deles, os animais não receberam a implantação de biomateriais, sendo usado como grupo controle.

Após o preparo adequado do campo cirúrgico, os tecidos ao redor do local onde a bactéria foi inoculada foram submetidos à desbridamento e lavagem com solução salina, visando a remoção de tecidos desvitalizados e secreção purulenta, à fim de permitir a implantação dos biomateriais relacionados na tabela 1. Identificado o defeito ósseo gerado na ocasião da indução de osteomielite, prosseguiu-se com a aspiração de medula óssea para cultivo bacteriano. Imediatamente antes de serem implantados, cada material, na quantidade aproximada de 0,2 mg, foi umedecido com 0,2 ml de solução salina estéril para formar uma pasta moldável. Em seguida, a pasta foi modelada em forma de

comprimido de aproximadamente 5 mm de diâmetro, que foi então implantado conforme a tabela 2. Os animais do grupo controle não receberam implantes, tendo sido submetidos apenas à lavagem e desbridamento. Após a implantação, os tecidos foram suturados de forma rotineira.

Tabela 2 - Grupos experimentais e respectivos protocolos de tratamentos.

GRUPOS	TRATAMENTOS
G1	Desbridamento, lavagem e implantação do biomaterial HCoγ
G2	Desbridamento, lavagem e implantação do biomaterial JCoγ
G3	Desbridamento, lavagem e implantação do biomaterial Coγ
G4	Desbridamento, lavagem e implantação do biomaterial HCo
Co	Desbridamento e lavagem sem implantação de biomaterial

HCoγ: hidroxiapatita sintética, ferrita de cobalto e ciprofloxacina (LABSMAC); JCoγ: hidroxiapatita sintética, ferrita de cobalto e ciprofloxacina (JHS); Coγ: ferrita de cobalto e ciprofloxacina (LABSMAC); HCo: hidroxiapatita e ferrita de cobalto (LABSMAC).

3.4. AVALIAÇÃO CLÍNICA, RADIOGRÁFICA E DENSITOMETRIA RADIOGRÁFICA

A evolução clínica da osteomielite e dos tratamentos foi realizada através de exame clínico nos primeiros sete dias no período de pós operatório e observação diária dos animais até a eutanásia. Neste período, os animais foram avaliados com relação a claudicação, e grau de movimentação, consumo de alimento e condições da ferida cirúrgica, se havia deiscência, secreção purulenta ou processo inflamatório. A ocorrência de deiscência e secreção purulenta na ferida foram avaliadas como presente ou ausente. A presença de processo inflamatório foi observada visualmente através do exame físico do local da cirurgia.

Os exames radiográficos foram repetidos aos 42 dias após as cirurgias, imediatamente antes de se proceder à eutanásia dos animais. Para a realização do exame radiográfico, cada animal foi sedado e posicionado em decúbito lateral direito, com o membro torácico direito estendido e a cabeça tracionada dorsalmente. Todas as radiografias foram realizadas com um penetrômetro de alumínio posicionado ao lado do membro radiografado. As radiografias foram reveladas digitalmente e as imagens foram analisadas visualmente, observando-se a integridade óssea (ausência de fratura), presença de reação periosteal, esclerose óssea e/ou regiões de perda óssea. Em seguida, as imagens foram analisadas no programa computacional ImageJ e pela ferramenta de análise de histograma foi construída uma curva de densidade com base no penetrômetro, Os resultados foram interpretados com auxílio do teste t-pareado e ANOVA com nível de significância de 5%.

Após a realização das radiografias, os animais sofreram eutanásia por sobredose de propofol e cloreto de potássio de acordo com as normas exigidas pela Resolução 1000/2012 do CFMV. Na sequência, foi realizada a coleta do úmero, o qual foi dissecado e separado da ulna e da escápula com o auxílio de uma serra manual. Os tecidos moles foram removidos e em seguida, os ossos foram acondicionados em frascos individuais e fixados em formol 10% por 72 horas. Após este período, os ossos foram lavados em água corrente e acondicionados individualmente em frascos contendo álcool 70%.

3.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para a análise histológica, os ossos foram descalcificados e em seguida, preparados para a obtenção de cortes ao micrótomo e a confecção de lâminas histológicas de forma rotineira. Estas foram coradas com hematoxilina e eosina e analisadas ao microscópio óptico com câmera fotográfica acoplada.

Foram avaliadas a presença de tecido ósseo neoformado no local do defeito e sua interação com o biomaterial implantado, além de suas características estruturais. Com relação aos tecidos moles adjacentes, foi avaliada a presença ou ausência de cápsula fibrosa, e a presença, descrição e quantificação de infiltrado inflamatório. Também foram avaliadas e descritas a presença de hiperemia, regiões hemorrágicas, infiltração tecidual dentro do biomaterial, presença de necrose e evidências de fagocitose. No tocante à fibroplasia, infiltrado inflamatório, neoformação óssea, presença de linhas cimentantes e necrose, as lâminas foram avaliadas com relação à intensidade das alterações, sendo classificadas como ausente (0), discreta (1), moderada (2) ou intensa (3). Os resultados obtidos em cada grupo foram então submetidos a testes estatísticos descritivos (mediana e desvio-padrão). Em seguida, os dados foram submetidos ao teste Anova. Os resultados que mostraram diferença significativa entre os grupos foram então submetidos ao teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA E RADIOGRÁFICA

4.1.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA, EXAME FÍSICO E NECROPSIA

No exame físico realizado imediatamente antes da cirurgia para a implantação dos biomateriais, todos os animais apresentavam um edema significativo na região cranial do membro torácico direito, o qual se estendia até o terço médio do mesmo. Ao procedimento cirúrgico, após a incisão observou-se a presença de um exsudato purulento espesso, em quantidades variáveis, em todos os animais. Este exsudato, quando em maior quantidade se organizou em forma de abscesso e como exposto acima, em alguns casos (10,7% dos animais) se formou um trajeto fistuloso até a pele. Além do exsudato purulento, foi observado que os tecidos estavam desvitalizados, apresentando uma coloração acinzentada e com uma presença expressiva de fibrose.

Estes achados são característicos da infecção de tecidos moles causada por *S. aureus* e correspondem a um quadro de piomiosite, que é a infecção aguda dos músculos esqueléticos, caracterizada primariamente por uma coleção de pus (Idelevich *et al.*, 2016). Os sinais clínicos da piomiosite são dor muscular localizada, rigidez e edema local com o desenvolvimento de uma coleção de pus. Ao longo de sua evolução ocorre a formação de abscesso (Comegna *et al.*, 2016; Idelevich *et al.*, 2016).

Nas primeiras 24 horas após o procedimento cirúrgico, os animais não se alimentaram, retornando gradualmente ao consumo normal de ração 48 horas após a cirurgia. Os animais evitaram apoiar o membro operado nos primeiros sete dias após o procedimento cirúrgico. Após este período, foram gradualmente voltando à deambulação normal, com o apoio do membro operado. Não foram observadas diferenças de claudicação ou apoio de membro entre os animais dos grupos tratados e entre os do grupo controle.

A cicatrização das feridas ocorreu pela primeira intenção na maioria dos animais, tendo ocorrido deiscência em 11% dos animais, sem diferença entre grupos tratados e controle. Dois animais (sendo um deles do grupo controle e um tratado), tiveram secreção purulenta na ferida cirúrgica, sem ocorrência de deiscência. Essa secreção purulenta esteve presente nos dois animais, ao décimo dia de pós-operatório, tendo persistido por aproximadamente uma semana.

Portanto, não foram observadas diferenças entre os grupos na recuperação dos animais no período do pós-operatório no que tange ao apoio do membro, ao edema pós-cirúrgico e ao estado clínico geral dos mesmos. Assim como não houve diferença na ocorrência de complicações como deiscência, formação de abscessos ou fístulas entre animais tratados com biomateriais e os animais do grupo controle. Durante todo o período compreendido entre as cirurgias e a eutanásia, não foram observadas diferenças na evolução clínica da doença entre animais tratados com os diferentes biomateriais, ou mesmo entre estes e o grupo controle. Estes resultados, são indicativos da biocompatibilidade dos materiais utilizados, já que não foram observadas sintomatologia clínica que indicasse reações de rejeição. Esta biocompatibilidade foi comprovada em um trabalho anterior e está descrita em Cintra *et al.*, (2022). Desta forma, os sinais clínicos observados foram relacionados ao quadro infeccioso previamente existente.

À necropsia, aos 57 dias após a inoculação bacteriana, se observou em 4 animais (sendo um do grupo controle, um do G1, um do G3 e um do G4) a presença de discreta quantidade de secreção purulenta nos tecidos moles ao redor do local onde foi produzida a falha óssea, sem formação de tecido fibrótico ou abcessos. Os biomateriais implantados estavam presentes espalhados nos tecidos que recobrem a região da falha óssea na maioria (81%) dos animais tratados.

4.2.2. AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

Nas radiografias obtidas no início do experimento era possível notar-se uma região circular radiotransparente de visibilidade variável, na região metafisária proximal, correspondente à falha óssea produzida na cirurgia de indução da osteomielite. Neste momento, as alterações observadas são sutis ou mesmo ausentes, como é mostrado na figura 1 (A, B e C). Na figura 1A, não se observam alterações ósseas claras, mas é possível notar-se alterações nos tecidos moles circundantes. Porém na figura 1B pode-se notar perda de definição córtico-medular com adelgaçamento da cortical, aumento da radiopacidade do canal medular e lesões líticas. Essas alterações estão de acordo com os achados descritos na literatura, como por Heitzmann *et al.* (2018). Segundo esses autores, as alterações radiográficas observadas nos quadros de osteomielite podem ser bastante variadas, principalmente nas fases iniciais.

Figura 1: Radiografias do membro anterior direito na posição mediolateral dos animais Co6 (A); G1A (B) e G4E (C). As setas brancas mostram a falha óssea; as cabeças de seta mostram o tecido mole edemaciado com radiopacidade aumentada; os círculos evidenciam região com aspecto sugestivo de lise óssea.

Segundo a literatura, os achados radiográficos mais comuns em quadros de osteomielite são reação periosteal inespecífica e osteólise. Também pode-se observar aumento da densidade do canal medular, adelgaçamento da cortical, presença de sequestros ósseos (Heitzmann *et al.*, 2019; Ramirez *et al.*, 2020), osteopenia, perda do padrão trabecular e aposição de osso novo (Pineda; Espinosa; Pena, 2009; Smith; Buchanan; Shuler, 2016; Urish & Cassat, 2020). Há também as alterações relacionadas ao acometimento dos tecidos moles circundantes com inchaço muscular e perda de definição dos planos teciduais (Pineda; Espinosa; Pena, 2009; Lee *et al.*, 2016; Urish & Cassat, 2020). Entretanto, a técnica radiológica apresenta limitações, sendo que somente após a perda de no mínimo 30-50% de osso, que as alterações ósseas se tornam visíveis radiograficamente (Lee *et al.*, 2016; Smith; Buchanan; Shuler, 2016; Zinquan *et al.*, 2019; Urish & Cassat, 2020).

Aos 42 dias após as cirurgias, a falha óssea era menos evidente radiograficamente na maioria dos animais tratados. Somente em 5 cinco animais ela ainda estava visível (21,7%). Em três animais (60%) do grupo controle, a falha óssea ainda era visível aos 42 dias, sendo que em um deles, era mais evidente do que aos 15 dias, antes da instituição dos tratamentos. A figura 3 mostra a falha óssea bem evidente em um animal do grupo controle (Fig. 1A) e a falha menos evidente em relação ao osso circunvizinho em um animal tratado do grupo 2 (Fig. 1B). Essa diferença dos grupos tratados em relação ao grupo controle pode ser devido à presença da HAp nos biomateriais dos grupos 1, 2 e 4 e da $CoFe_2O_4$ no grupo 3 e demais grupos tratados. Ambos possuem alto número atômico e radiopacidade semelhante ao osso, contribuindo, portanto, para um incremento de radiopacidade nos locais onde estão presentes, neste caso, no defeito ósseo (Mushtaq *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2024). Outra razão para a diferença de radiopacidade entre tratados e controle, seria a ocorrência de maior neoformação óssea nos animais que receberam os biomateriais. Esta hipótese foi confirmada na histologia.

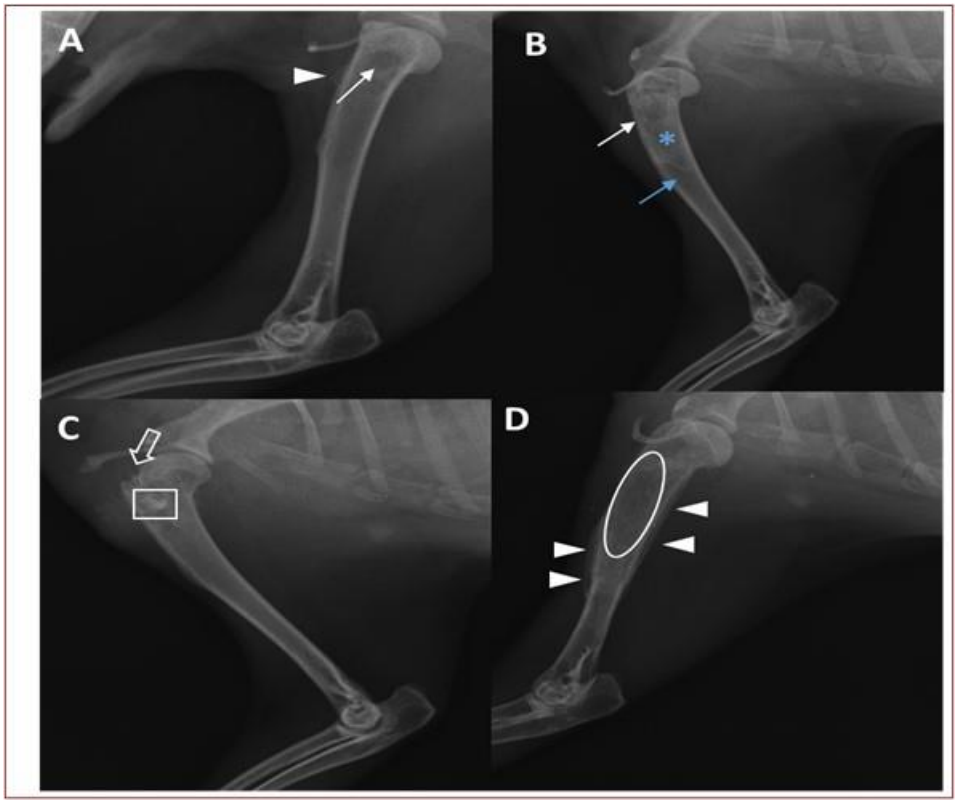
As radiografias mostraram a presença de biomaterial no local do defeito ósseo (Fig. 2C) ou em sua proximidade em alguns dos animais, não sendo possível estimar sua quantidade. Na maior parte das radiografias obtidas antes da eutanásia, os biomateriais não foram visibilizados. Na figura 2C, o biomaterial está visível dentro da falha óssea. Este fato, assim como no exposto acima, provavelmente se deve à semelhança de radiopacidade entre os biomateriais e o osso. Outro fator a ser considerado é que pelo fato

de serem em pó, os biomateriais se espalharam nos tecidos moles ao redor do defeito ósseo no momento em que foram implantados e também no interior da medula óssea, dificultando assim, sua visibilização. À necropsia, o biomaterial extravasado foi observado aderido à musculatura na região próxima a falha óssea, como descrito no ítem anterior.

Na maioria das radiografias obtidas, é possível observar alterações ósseas mais evidentes do que observado nas radiografias obtidas no começo do experimento, ou seja, ao se confirmar a osteomielite, inclusive nos animais dos grupos tratados com biomateriais (Fig. 2C e D). É possível observar regiões sugestivas de lise óssea em todas as radiografias, com diminuição da radiopacidade do canal medular, e também regiões com diminuição de radiopacidade alternadas com regiões com aparência de esclerose. Em todos os animais, é possível notar-se perda de definição do osso cortical no terço cranial da diáfise e na metáfise. Em um dos animais do grupo 4, observou-se fratura do tubérculo menor (Fig. 2C).

Aos 42 dias após os tratamentos, houve um aumento de densidade em relação ao início do experimento (confirmação da osteomielite), porém essa diferença não foi significativa. Além disso, não foram observadas diferenças significativas de densidade entre o Grupo Controle e os tratados com biomateriais (p = 0,3705).

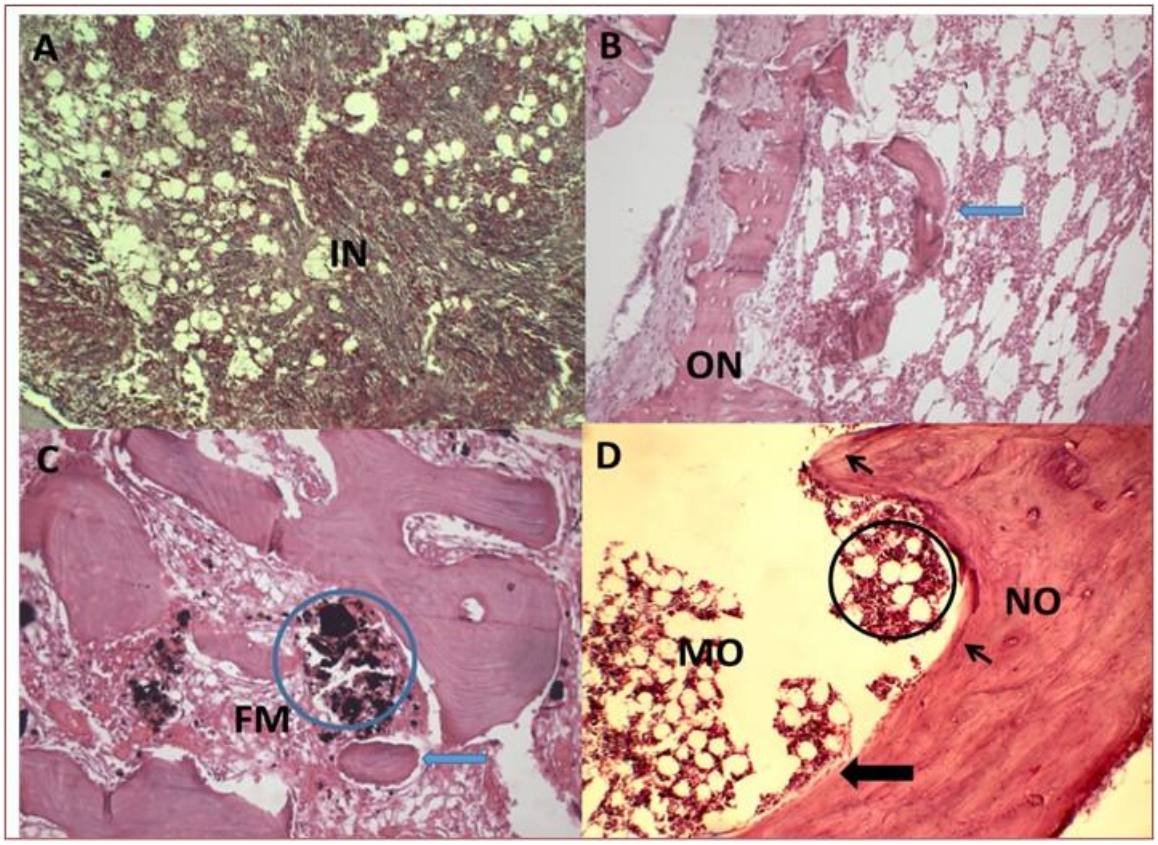
Figura 2 - Radiografias do membro anterior direito na projeção mediolateral dos animais no 2: Co5 (A); G1A (B); G4E (C) e G2C (D). As setas brancas evidenciam a falha óssea e as cabeças de seta mostram áreas com reação periosteal. A seta azul indica uma linha radiopaca que parece separar uma região de esclerose óssea (asterisco) do restante do osso. A seta larga indica região de fratura óssea, o retângulo evidencia o biomaterial. A elipse mostra uma área de menor radiopacidade intercalada



4.3. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Os biomateriais foram facilmente identificados durante toda análise histológica, como um material amorfo, de aspecto granular, acelular e bem definido. A $CoFe_2O_4$ foi visualizada em tons enegrecidos ou acinzentados sem afinidade pelo corante utilizado (HE). Já a HAp exibia uma coloração arroxeada, já que esta possui maior afinidade pela hematoxilina, fato observado por Sepúlveda *et al.* (2013) e Cintra *et al.* (2022). Em todos os tratamentos, o biomaterial interagia em algum grau com o tecido circundante (Fig. 3 C e D).

Figura 3: Fotomicrografias de animais dos grupos controle (A e B) e tratados (C e D). Em A (Co2), extensa região de infiltrado inflamatório (IN) em região de medula óssea; em B (Co6), fragmento ósseo desvitalizado (seta) com características de sequestro ósseo e fragmento ósseo com lacunas vazias, caracterizando osteonecrose (ON); C (G3E): região de fibrose medular (FM) e seta apontando provável sequestro ósseo. O círculo evidencia o biomaterial; D (G1A): região de neoformação óssea (NO), com osteoblastos ativos (seta preta larga). É possível notar osteócitos encerrados em lacuna e linhas cimentantes (setas pequenas). O círculo evidencia região de medula óssea contendo fragmentos de biomaterial. Aumento de 100X.



Nos animais do grupo controle, e em alguns dos tratados, foi possível identificar áreas com características histológicas de mielite e hipoplasia medular. A presença de células inflamatórias foi observada em todos os grupos, sendo maior no grupo controle, com diferença significativa em relação aos demais grupos (tabela 3). Foi possível notar regiões com infiltrado inflamatório multifocal, com a presença de macrófagos/histiócitos e linfócitos (Fig. 3 A). Tanto nos grupos tratados, quanto no grupo controle, não foram observadas a presença de células polimorfonucleares, exceto no G4, em que essa célula foi detectada em pequena quantidade.

Tabela 3 – Valores de média e desvio-padrão dos parâmetros avaliados à histologia

Grupos	Neoform óssea	Tecido cicatricial	Linha cimentante	Infiltrado inflamatório	Necrose
G1	1,17±0,41 a	1,67±0,52 a	0,83±0,98 a	0,67±0,52 a	0 a
G2	1 a	1,67±0,52 a	0,5±1,22 a	1±0,63 a	0,17±0,41 a
G3	1 a	1,8±0,44 a	1,4±0,54 a	1,1±0,32 a	0 a
G4	0,67±0,52 a	1 b	0,17±0,41 a	1,17±0,41 a	0,67±0,52 b
Controle	0 b	1 b	0 b	2,2±0,45 b	0,4±0,55 a

Material obtido 42 dias após a realização dos seguintes tratamentos: G1 (HCoγ); G2 (JCoγ); G3 (Coγ); G4 (HCo); Controle (sem implantes). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa pelos testes Anova e Tukey ($p < 0,05$).

Segundo a literatura, a presença do infiltrado inflamatório poderia ser devido à presença do biomaterial, como também pelo quadro de osteomielite, que ainda estava presente ao final do experimento. Segundo Anderson, Rodriguez & Chang (2008), a resposta inicial à implantação de um biomaterial é a observação de um infiltrado inflamatório agudo neutrofílico, presente por até uma semana. Outras células implicadas na reação inflamatória induzida por biomateriais implantados são linfócitos, monócitos e macrófagos, que são recrutados em seguida aos neutrófilos (Rostam *et al.*, 2016; Hachim *et al.*, 2017; Cintra *et al.*, 2022). Na fase inflamatória crônica, o infiltrado inflamatório é composto principalmente por células da linhagem monocítica, tendo duração variável (Rostam *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2018; Ferreira-Ermita *et al.*, 2020). Portanto, a presença de infiltrado inflamatório nas lâminas deste trabalho, seria esperado, mas por outro lado, está em desacordo com os resultados observados em estudos anteriores de nossa equipe (Borges *et al.*, 2000; Vital *et al.*, 2008). Em nossos trabalhos anteriores, utilizamos hidroxiapatita pura (Borges *et al.*, 2000) ou associada a outros compostos diversos (Vital *et al.* 2006; Vital et. al. 2008; Carlo *et al.* 2009; Carlo *et al.* 2010), sendo que em nenhum dos trabalhos foi observada a presença de células inflamatórias.

Nos estudos de biocompatibilidade realizados com os biomateriais utilizados no presente trabalho, mostrou-se a presença de infiltrado inflamatório até os 100 dias após sua implantação nos animais que receberam os compósitos JCoγ e Coγ. Aos 70 dias o infiltrado não foi mais observado nos animais que receberam o HCo e o HCoγ (Cintra *et al.*, 2022). Porém, cabe salientar que no referido estudo, os biomateriais foram implantados na região dorsal dos animais, abaixo da fáscia muscular. Pelo fato destes biomateriais serem adequados para o uso em tecido ósseo, era esperada uma reação inflamatória moderada, quando implantados em tecido mole. Pelos resultados observados no presente estudo e nos de Cintra *et al.* (2022) e comparando com os resultados de estudos anteriores citados acima e também pelo fato de que o infiltrado também estava presente no grupo controle, consideramos o mesmo como totalmente relacionado à osteomielite.

Na osteomielite crônica também é comum a presença de infiltrado inflamatório monocítico, com predomínio de plasmócitos, linfócitos e macrófagos. Este tipo de infiltrado inflamatório está presente tanto nos tecidos moles, quanto nos espaços medulares (Stupina *et al.*, 2019; Sybenga *et al.*, 2020), que como citado acima, foram encontrados no presente trabalho. Segundo vários autores, na osteomielite crônica, é comum a presença de tecido ósseo reativo com deposição de osso novo e superfície óssea rodeada por osteoblastos (Samiee-Rad *et al.*, 2017; Stupina *et al.*, 2019; Sybenga *et al.*,

2020). Neste trabalho, em nenhum dos animais do grupo controle, foi observada qualquer tipo de reatividade óssea ou deposição de osso novo.

No grupo controle e no G4 foram observadas regiões de osteonecrose e sequestro ósseo, caracterizados por tecido ósseo com lacunas vazias, sem a presença de osteócitos, além de poucos ou mesmo nenhum osteoblasto em torno da trabécula óssea e áreas de sugestivas de reabsorção do osso (Fig. 3 B e C). No G1 e G3 não foi observada a presença de necrose. No G4, a necrose foi observada em maior quantidade, sendo a diferença significativa em relação aos demais grupos tratados e também ao controle. Pelo fato de que o biomaterial utilizado nesse grupo não possuía ciprofloxacina em sua composição, ele não foi eficaz como tratamento de osteomielite, justificando a ocorrência de necrose.

Em todos os grupos que receberam biomateriais pôde-se observar a presença de neoformação óssea e linha cimentante. No G4 havia menor quantidade de tecido ósseo neoformado, porém sem diferença significativa entre os demais grupos tratados. Neste grupo, as linhas cimentantes eram menos evidentes. Além disso, foi o grupo no qual se observou a maior quantidade de células inflamatórias quando comparado aos demais que receberam biomaterial (G1, G2 e G3). Com relação ao tecido cicatricial (fibrose), este foi observado em todos os grupos, mas em menor quantidade no G4 e grupo controle, com diferença significativa em relação aos demais. Não foram observados indícios de osteoneogênese reparadora nem linha cimentante em nenhuma das lâminas do grupo controle (Fig. 3 A e B), entretanto, com relação às linhas cimentantes, não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 3). Este resultado se explica pela grande variação dentro dos grupos. Somente no grupo 3, linhas cimentantes estavam presentes em todas as lâminas avaliadas. No grupo 2, elas estavam presentes de forma intensa, apenas nas lâminas de um animal e ausente nas demais. Novamente, no grupo 4, as lâminas de um animal somente continha linhas cimentantes, porém em quantidade discreta.

Nos grupos tratados foi bastante evidente que havia um processo de reparação do tecido ósseo, apesar da persistência da osteomielite (Fig. 3 D). Em trabalhos onde foi utilizado um defeito crítico para se comprovar a eficácia da hidroxiapatita, fica claro o papel osteocondutor da mesma (Roddy *et al.*, 2017). Entretanto, não utilizamos defeito crítico no presente trabalho, levando a crer que a diferença entre tratados e controle está relacionada à eficácia dos biomateriais em diminuir o processo inflamatório e a infecção, permitindo a neoformação óssea. Em nosso estudo anterior, no qual se testou a biocompatibilidade dos materiais utilizados, também foi possível constatar a eficácia dos materiais na liberação do antibiótico, e sua ação contra a cepa de *S. aureus* utilizada (Cintra *et al.* 2022). Além disso, descrevemos que a ferrita de cobalto também tem papel antimicrobiano, fato observado por diversos autores e descrito em Cintra *et al.*, (2022). Mesmo no grupo 4, cujos animais receberam um biomaterial que não continha ciprofloxacina (HCo), como descrito acima foi observada neoformação óssea e linhas cimentantes. Embora tenha havido formação de osso novo, é visível que as linhas cimentantes neste grupo são menos evidentes, além da quantidade de osso neoformado, menor que nos demais grupos. Além disso, neste grupo, assim como no grupo controle, foi observada a ocorrência de necrose estatisticamente significativa. Acreditamos que essa diferença em relação aos demais grupos tratados, seja devida à falta da ciprofloxacina no biomaterial do grupo 4, fazendo com que esse biomaterial tivesse menor eficácia em combater o processo infeccioso.

Nos resultados obtidos por Santos *et al.* (2021) ao estudarem a velocidade de liberação do antibiótico nos biomateriais utilizados neste trabalho, constataram uma alta velocidade de liberação pouco segundos após o início dos testes, seguida por um período

de liberação mais lento variável a cada biomaterial testado, ao longo dos 120 minutos de observação. Sem a presença de um campo magnético externo, os biomateriais JCoγ e HCoγ já haviam liberado em torno de 50% do medicamento adsorvido, enquanto que o biomaterial Coγ, havia liberado aproximadamente 10% do medicamento. Estes testes, realizados *in vitro*, levam à hipótese de que *in vivo*, os biomateriais tiveram padrão de liberação semelhante, com rápido esgotamento do medicamento. Este fato provavelmente comprometeu os tratamentos, sendo que em nenhum dos grupos houve cura do quadro infeccioso. Sabe-se que a osteomielite crônica requer antibioticoterapia por longo período de tempo, sendo que no tratamento por via parenteral, o preconizado é um tratamento mínimo de 4 a 6 semanas, com posterior mudança para terapia oral (Samiee-Rad *et al.*, 2017; Stupina *et al.*, 2019; Sybenga *et al.*, 2020).

Stavrakris *et al.* (2019) estudando a liberação de vancomicina em implantes de titânio revestidos com poli (etileno glicol) objetivando o uso no tratamento de osteomielite, relatam um pico de liberação inicial do antibiótico. Em seguida, cada biomaterial apresentou um padrão diferente de liberação, seguido por um platô após 24 horas. A liberação perdurou de forma estável no período de tempo analisado (sete dias), sendo que ao fim deste período, o padrão de liberação não demonstrava sinais de decréscimo. O mesmo padrão de liberação de vancomicina à partir de scaffolds de titânio e alumínio foi descrito por Zhang *et al.* (2019), em cujo trabalho, a liberação do antibiótico foi mensurada ao longo de 20 dias, sem ocorrer decréscimo em sua liberação durante esse período. Comparando nossos resultados com os obtidos nos estudos citados acima, pudemos supor que em nosso estudo, a velocidade de liberação da ciprofloxacina foi inadequada para o tratamento da osteomielite. A vantagem de se conseguir uma concentração adequada de medicamento no local da lesão não suplanta a necessidade de essa concentração se manter estável pelo período de tempo necessário para a cura clínica.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os biomateriais utilizados neste trabalho se mostraram biocompatíveis com o tecido ósseo, já que não se observou qualquer característica indicativa de rejeição nos pacientes tratados;
- A eficácia dos biomateriais em combater o quadro infeccioso foi variável, sendo que as melhores respostas foram obtidas nos grupos que receberam biomateriais com antibiótico associado;
- A velocidade de liberação do fármaco provavelmente não foi adequada para a cura do quadro infeccioso. Para tratar osteomielite crônica é necessário uma antibioticoterapia agressiva, em um período mínimo de três semanas, com dosagem constante do medicamento utilizado. Os biomateriais do presente trabalho tiveram um perfil de liberação *in vitro* do fármaco incompatível com um tratamento adequado, levando a crer que este padrão se repetiu nos estudos *in vivo.*

REFERÊNCIAS

[1] ABUDAYYAK, Mahmoud; ALTINCEKIC GURKAYNAK, Tuba; ÖZHAN, Gül. In Vitro Toxicological Assessment of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Several Mammalian Cell Types. **Biological Trace Element Research**, v. 175, n. 2, p. 458–465, 2016.

[2] AMIRI, S.; SHOKROLLAHI, H. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 1, p. 1–8, 2013.

[3] ANDERSON, James M.; RODRIGUEZ, Analiz; CHANG, David T. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86–100, 2008.

[4] ARABNEJAD, Sajad; BURNETT JOHNSTON, R.; PURA, Jenny Ann; *et al.* High-strength porous biomaterials for bone replacement: A strategy to assess the interplay between cell morphology, mechanical properties, bone ingrowth and manufacturing constraints. **Acta Biomaterialia**, v. 30, p. 345–356, 2016.

[5] ARAÚJO, P. M. A. G.; ARAÚJO, N. G.; SILVA, M. R.; *et al.* Estudo do efeito da modificação de superfície de Fe3O4 e CoFe2O4 para aplicação como carreador de fármaco. **Cerâmica**, v. 64, n. 372, p. 466–476, 2018.

[6] BIRT, Mitchell C.; ANDERSON, David W.; BRUCE TOBY, E.; *et al.* Osteomyelitis: Recent advances in pathophysiology and therapeutic strategies. **Journal of Orthopaedics**, v. 14, n. 1, p. 45–52, 2017.

[7] BORGES, Andréa P.B.; REZENDE, C.M.F; BARBOSA, Flávio; *et al.* Hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em defeito experimental provocado no terço proximal da tíbia em cão: aspectos à microscopia eletrônica de transmissão. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 616–620, 2000.

[8] CAMPANA, V.; MILANO, G.; PAGANO, E.; *et al.* Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 10, p. 2445–2461, 2014.

[9] CAMPBELL, Mara J; BEENKEN, Karen E; RAMIREZ, Aura M; *et al.* The major role of *sarA* in limiting *Staphylococcus aureus* extracellular protease production *in vitro* is correlated with decreased virulence in diverse clinical isolates in osteomyelitis. **Virulence**, v. 14, n. 1, 2023.

[10] CARLO, Emily Correna; BORGES, Andréa Pacheco Batista; DEL CARLO, Ricardo Junqueira; *et al.* Comparison of In Vivo Properties of Hydroxyapatite-Polyhydroxybutyrate Composites Assessed for Bone Substitution. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 20, n. 3, p. 853–859, 2009.

[11] CHANDRA, V. Sarath. Effect Of Irradiation Of Si5+ Ion On Fe Doped Hydroxyapatite. **Advanced Materials Letters**, v. 4, n. 6, p. 438–443, 2013.

[12] CHIARELLO, Eugenio; CADOSSI, Matteo; TEDESCO, Giuseppe; *et al.* Autograft, allograft and bone substitutes in reconstructive orthopedic surgery. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 25, n. S1, p. 101–103, 2013.

[13] CHOW, L C. Next generation calcium phosphate-based biomaterials. **Dental materials journal**, v. 28, n. 1, p. 1–10, 2009.

[14] CINTRA, Cristiane C. Vital; FERREIRA-ERMITA, Dayana A. C.; LOURES, Fabrícia H.; *et al.* In vitro characterization of hydroxyapatite and cobalt ferrite nanoparticles compounds and their biocompatibility in vivo. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 33, n. 2, 2022.

[15] COMEGNA, Laura; GUIDONE, Paola Irma; PREZIOSO, Giovanni; *et al.* Pyomyositis is not only a tropical pathology: a case series. **Journal of Medical Case Reports**, v. 10, n. 1, 2016.

[16] COSTA, Daniel O.; PROWSE, Paul D. H.; CHRONES, Tom; *et al.* The differential regulation of osteoblast and osteoclast activity by surface topography of hydroxyapatite coatings. **Biomaterials**, v. 34, n. 30, p. 7215–7226, 2013.

[17] DE JONG. Drug Delivery and nanoparticles: Applications and Hazards. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, n. 2, p. 133, 2008.

[18] DEVANAND VENKATASUBBU, G.; RAMASAMY, S.; RAMAKRISHNAN, V.; *et al.* Nanocrystalline hydroxyapatite and zinc-doped hydroxyapatite as carrier material for controlled delivery of ciprofloxacin. **3 Biotech**, v. 1, n. 3, p. 173–186, 2011.

[19] DI GUGLIELMO, Claudia; LÓPEZ, David Ramos; DE LAPUENTE, Joaquín; *et al.* Embryotoxicity of cobalt ferrite and gold nanoparticles: A first in vitro approach. **Reproductive Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 271–276, 2010.

[20] DIGIGOW, Reinaldo G; JEAN-FRANÇOIS DECHÉZELLES; DIETSCH, Hervé; *et al.* Preparation and characterization of functional silica hybrid magnetic nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 362, p. 72–79, 2014.

[21] DORATI, Rossella; DETRIZIO, Antonella; MODENA, Tiziana; *et al.* Biodegradable Scaffolds for Bone Regeneration Combined with Drug-Delivery Systems in Osteomyelitis Therapy. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 96, 2017.

[22] ELIAS, Andrew ; TSOURKAS, Andrew. Imaging circulating cells and lymphoid tissues with iron oxide nanoparticles. **Hematology**, v. 2009, n. 1, p. 720–726, 2009.

[23] FATEMEH SAMIEE-RAD; AMIR ABDOLLAH ZANGIVAND; PARSA, Hossien; *et al.* Microbiologic and histopathological findings of osteomyelitis in diabetic patients. **Comparative Clinical Pathology**, v. 26, n. 4, p. 847–852, 2017.

[24] GAUDIN, A.; AMADOR DEL VALLE, G.; HAMEL, A.; *et al.* A new experimental model of acute osteomyelitis due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus in rabbit. **Letters in Applied Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 253–257, 2011.

[25] GITTENS, Rolando A.; MCLACHLAN, Taylor; OLIVARES-NAVARRETE, Rene; *et al.* The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentiation. **Biomaterials**, v. 32, n. 13, p. 3395–3403, 2011.

[26] GOPI, D.; ANSARI, M. Thameem; SHINYJOY, E.; *et al.* Synthesis and spectroscopic characterization of magnetic hydroxyapatite nanocomposite using ultrasonic irradiation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 87, p. 245–250, 2012.

[27] GRAHAM, Neil B. Polymeric Inserts and Implants for the Controlled Release of Drugs. **British Polymer Journal**, v. 10, n. 4, p. 260–266, 1978.

[28] GRETZER, Christina; EMANUELSSON, Lena; LILJENSTEN, Elisabeth; *et al.* The inflammatory cell influx and cytokines changes during transition from acute inflammation to fibrous repair around implanted materials. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 17, n. 6, p. 669–687, 2006.

[29] GUI, N.; XU, W.; MYERS, D. E.; *et al.* The effect of ordered and partially ordered surface topography on bone cell responses: a review. **Biomaterials Science**, v. 6, n. 2, p. 250–264, 2018.

[30] GUO, B.; LEI, B.; LI, P.; *et al.* Functionalized scaffolds to enhance tissue regeneration. **Regenerative Biomaterials**, v. 2, n. 1, p. 47–57, 2015.

[31] GUPTA, Ram B.; KOMPELLA, Uday B. **Nanoparticle Technology for Drug Delivery**. [s.l.]: Informa, 2006.

[32] HACHIM, Daniel; LOPRESTI, Samuel T.; YATES, Cecelia C.; *et al.* Shifts in macrophage phenotype at the biomaterial interface via IL-4 eluting coatings are associated with improved implant integration. **Biomaterials**, v. 112, p. 95–107, 2017.

[33] HASSAN MUHAMMAD ROSTAM; SINGH, Sonali; SALAZAR, Fabián; *et al.* The impact of surface chemistry modification on macrophage polarisation. **Immunobiology**, v. 221, n. 11, p. 1237–1246, 2016.

[34] HEITZMANN, Lourenço Galizia; BATTISTI, Raphael; RODRIGUES, Ayres Fernando; *et al.* Postoperative Chronic Osteomyelitis in the Long Bones - Current Knowledge and Management of the Problem. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 54, n. 6, p. 627–635, 2019.

[35] HOSSAIN, Nayem; MD. SHAKIL CHOWDHURY; MD. SAJIB MUNSI; *et al.* Synthesis and Characterization of Nano Hydroxyapatite from Hilsha Fish Bone for Biomedical Applications. **NANO**, 2024.

[36] IDELEVICH, Evgeny A; KREIS, Carolin; LÖFFLER, Bettina; *et al.* Staphylococcus aureus-Associated Musculoskeletal Infections. **Curr Top Microbiol Immunol .**, n. 409, p. 229–261, 2016.

[37] IFTIKHAR, Sundus; JAHANZEB, Noureen; SALEEM, Mehvish; *et al.* The trends of dental biomaterials research and future directions: A mapping review. **The Saudi Dental Journal**, v. 33, n. 5, p. 229–238, 2021.

[38] KADKHODAPOUR, J.; MONTAZERIAN, H.; DARABI, A.Ch.; *et al.* Failure mechanisms of additively manufactured porous biomaterials: Effects of porosity and type of unit cell. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 50, p. 180–191, 2015.

[39] KIM, Chang-Shik; JUNG, Kyung-Hye; KIM, Hun; *et al.* Collagen-grafted porous HDPE/PEAA scaffolds for bone reconstruction. **Biomaterials Research**, v. 20, n. 1, 2016.

[40] KLENKE, Frank M.; LIU, Yuelian; YUAN, Huipin; *et al.* Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutesin vivo. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 85A, n. 3, p. 777–786, 2008.

[41] KOKUBO, Tadashi; KIM, Hyun-Min ; KAWASHITA, Masakazu. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161–2175, 2003.

[42] KOPF, Brigitte S; RUCH, Sylvie; BERNER, Simon; *et al.* The role of nanostructures and hydrophilicity in osseointegration:*In-vitro*protein-adsorption and blood-interaction studies. **J Biomed Mater Res Part a**, v. 103, n. 8, p. 2661–2672, 2015.

[43] KRAMER, Erica; ITZKOWITZ, Emily ; WEI, Mei. Synthesis and characterization of cobalt-substituted hydroxyapatite powders. **Ceramics International**, v. 40, n. 8, p. 13471–13480, 2014.

[44] KUMAR, G. Suresh; GOVINDAN, R. ; GIRIJA, E. K. In situ synthesis, characterization and in vitro studies of ciprofloxacin loaded hydroxyapatite nanoparticles for the treatment of osteomyelitis. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, n. 31, p. 5052–5060, 2014.

[45] LEE, Min Suk; LEE, Dong Hyun; JEON, Jin; *et al.* Topographically Defined, Biodegradable Nanopatterned Patches to Regulate Cell Fate and Acceleration of Bone Regeneration. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 45, p. 38780–38790, 2018.

[46] LI, Ziqi; WAN, Weimin; BAI, Ziwei; *et al.* Construction of pH-responsive nanoplatform from stable magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and intracellular imaging. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 375, p. 132869–132869, 2022.

[47] MAKSOUD, M.I.A. Abdel; EL-SAYYAD, Gharieb S.; ASHOUR, A.H.; *et al.* Antibacterial, antibiofilm, and photocatalytic activities of metals-substituted spinel cobalt ferrite nanoparticles. **Microbial Pathogenesis**, v. 127, p. 144–158, 2019.

[48] MARTINEZ, Maria Alejandra Frias; BALDERRAMA, Ísis de Fátima; KARAM, Paula Stephania Brandão Hage; *et al.* Surface roughness of titanium disks influences the adhesion, proliferation and differentiation of osteogenic properties derived from human. **International Journal of Implant Dentistry**, v. 6, n. 1, 2020.

[49] MASTERS, Elysia A.; TROMBETTA, Ryan P.; DE MESY BENTLEY, Karen L.; *et al.* Evolving concepts in bone infection: redefining “biofilm”, “acute vs. chronic osteomyelitis”, “the immune proteome” and “local antibiotic therapy”. **Bone Research**, v. 7, n. 1, 2019.

[50] MD. ARIF HOSSAIN; NILUFER YESMIN TANISA; AWAL, Rabiul; *et al.* Exploration and examination of the structural, optical, thermal, and functional attributes of a hydroxyapatite and cobalt ferrite nanocomposite for biomedical utilization. **AIP Advances**, v. 14, n. 7, 2024.

[51] MOHAPATRA, Sasmita; NABAKUMAR PRAMANIK; MUKHERJEE, Sayak; *et al.* A simple synthesis of amine-derivatised superparamagnetic iron oxide nanoparticles for bioapplications. **Journal of Materials Science**, v. 42, n. 17, p. 7566–7574, 2007.

[52] MONDAL, B; MONDAL, S.; MONDAL, A.; *et al.* Fish scale derived hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. **Materials Characterization**, v. 121, p. 112–124, 2016.

[53] MUSHTAQ, Asim; ZHAO, Ruibo; LUO, Dandan; *et al.* Magnetic hydroxyapatite nanocomposites: The advances from synthesis to biomedical applications. **Materials & Design**, v. 197, p. 109269, 2021.

[54] NIKOLA SAULACIC; FUJIOKA-KOBAYASHI, Masako; KIMURA, Yasushi; *et al.* The effect of synthetic bone graft substitutes on bone formation in rabbit calvarial defects. **Journal of Materials Science Materials in Medicine**, v. 32, n. 1, 2021.

[55] NIZIOŁEK, Karina; DAGMARA SŁOTA; SADLIK, Julia; *et al.* Influence of Drying Technique on Physicochemical Properties of Synthetic Hydroxyapatite and Its Potential Use as a Drug Carrier. **Materials**, v. 16, n. 19, p. 6431–6431, 2023.

[56] OBADA, David O; OSSENI, Semiyou A; SINA, Haziz; *et al.* Hydroxyapatite materials-synthesis routes, mechanical behavior, theoretical insights, and artificial intelligence models: a review. **Journal of the Australian Ceramic Society**, v. 59, n. 3, p. 565–596, 2023.

[57] PARENT, Marianne; BARADARI, Hiva; CHAMPION, Eric; *et al.* Design of calcium phosphate ceramics for drug delivery applications in bone diseases: A review of the parameters affecting the loading and release of the therapeutic substance. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 1–17, 2017.

[58] PINEDA, Carlos; ESPINOSA, Rolando ; PENA, Angelica. Radiographic Imaging in Osteomyelitis: The Role of Plain Radiography, Computed Tomography, Ultrasonography, Magnetic Resonance Imaging, and Scintigraphy. **Seminars in Plastic Surgery**, v. 23, n. 02, p. 080–089, 2009.

[59] QIAO, Ruirui; FU, Changkui; FORGHAM, Helen; *et al.* Magnetic iron oxide nanoparticles for brain imaging and drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 197, p. 114822, 2023.

[60] REIS, Emily C. C.; BORGES, Andréa P. B.; OLIVEIRA, Paulo M.; *et al.* Desenvolvimento e caracterização de membranas rígidas, osteocondutoras e reabsorvíveis de polihidroxibutirato e hidroxiapatita para regeneração periodontal. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 73–79, 2012.

[61] RODDY, Erika; DEBAUN, Malcolm R.; DAOUD-GRAY, Adam; *et al.* Treatment of critical-sized bone defects: clinical and tissue engineering perspectives. **European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology: Orthopedie Traumatologie**, v. 28, n. 3, p. 351–362, 2018.

[62] SAHMANI, Saeid; KHANDAN, Amirsalar; SABER-SAMANDARI, Saeed; *et al.* Effect of magnetite nanoparticles on the biological and mechanical properties of hydroxyapatite porous scaffolds coated with ibuprofen drug. **Materials Science and Engineering: C**, v. 111, p. 110835, 2020.

[63] SCHLICKEWEI, Carsten W.; YARAR, Sinef ; RUEGER, Johannes M. Eluting antibiotic bone graft substitutes for the treatment of osteomyelitis in long bones. A review: evidence for their use? **Orthopedic Research and Reviews**, p. 71, 2014.

[64] SEPÚLVEDA, Rodrigo Viana; BORGES, Andréa Pacheco Batista; CONCEIÇÃO, Lissandro Gonçalves; *et al.* Composite synthetic hydroxyapatite 30%, in two physical states, as dermal filler. **Revista Ceres**, v. 60, n. 4, p. 458–464, 2013.

[65] SMELTZER, Mark S; J. ROBY THOMAS; HICKRAON, Sandra G; *et al.* Characterization of a rabbit model of staphylococcal osteomyelitis. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 15, n. 3, p. 414–421, 1997.

[66] SMITH, Brandon J.; BUCHANAN, Grant S.; SHULER, Franklin D. A comparison of imaging modalities for the diagnosis of osteomyelitis. **Marshall Journal of Medicine**, v. 2, n. 3, 2016.

[67] SOUZA, Cristina; ARDISSON, José D; SOUSA, Edésia. Study of mesoporous silica/magnetite systems in drug controlled release. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, n. 2, p. 507–512, 2008.

[68] SPILLER, Kara L.; NASSIRI, Sina; WITHEREL, Claire E.; *et al.* Sequential delivery of immunomodulatory cytokines to facilitate the M1-to-M2 transition of macrophages and enhance vascularization of bone scaffolds. **Biomaterials**, v. 37, p. 194–207, 2015.

[69] STUPINA, Tatiana Anatolievna; SUDNITSYN, Anatoliy Sergeyevich; SUBRAMANYAM, Koushik Narayan; *et al.* Applicability of histopathological osteomyelitis evaluation score (HOES) in chronic osteomyelitis of the foot — A feasibility study. **Foot and Ankle Surgery**, v. 26, n. 3, p. 273–279, 2020.

[70] SYBENGA, Amelia B.; JUPITER, Daniel C.; SPEIGHTS, V.O.; *et al.* Diagnosing Osteomyelitis: A Histology Guide for Pathologists. **The Journal of Foot and Ankle Surgery**, v. 59, n. 1, p. 75–85, 2020.

[71] URISH, Kenneth L.; CASSAT, James E. Staphylococcus aureus osteomyelitis: Bone, bugs, and surgery. **Infection and Immunity**, v. 88, n. 7, 2020.

[72] VEISEH, Omid; DOLOFF, Joshua C.; MA, Minglin; *et al.* Size- and shape-dependent foreign body immune response to materials implanted in rodents and non-human primates. **Nature Materials**, v. 14, n. 6, p. 643–651, 2015.

[73] VITAL, C.C.; BORGES, A.P.B.; FONSECA, C.C.; *et al.* Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 175–183, 2006.

[74] VITAL, C.C.; PACHECO, A.P.B.; FONSECA, C.C.; *et al.* Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos. **Revista CERES**, v. 55, n. 1, p. 9–14, 2008.

[75] VON RECUM, A. F.; LABERGE, M. Educational goals for biomaterials science and engineering: prospective view. **Journal of Applied Biomaterials: An Official Journal of the Society for Biomaterials**, v. 6, n. 2, p. 137–144, 1995.

[76] WANG, Guangshuo; ZHAO, Dexing; LI, Nannan; *et al.* Drug-loaded poly (ε-caprolactone)/Fe3O4 composite microspheres for magnetic resonance imaging and controlled drug delivery. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 456, p. 316–323, 2018.

[77] WEISSPFLOG, Maria; NGUYEN, Ngoc; SOBANIA, Nils; *et al.* Non-Stoichiometric Cobalt Ferrite Nanoparticles by Green Hydrothermal Synthesis and their Potential for Hyperthermia Applications. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 128, n. 37, p. 15598–15612, 2024.

[78] WINKLER, Heinz. Treatment of Chronic Orthopaedic Infection. **EFORT Open Reviews**, v. 2, n. 5, p. 110–116, 2017.

[79] ZELMER, Anja R.; NELSON, Renjy; RICHTER, Katharina; *et al.* Can intracellular Staphylococcus aureus in osteomyelitis be treated using current antibiotics? A systematic review and narrative synthesis. **Bone Research**, v. 10, n. 1, p. 1–18, 2022.

[80] ZHANG, Qinghua; WU, Zhaoxin; LI, Yuli; *et al.* Microgrooved Polymer Substrates Promote Collective Cell Migration To Accelerate Fracture Healing in an *in Vitro* Model. **ACS Appl Mater Interfaces.**, v. 7, n. 41, p. 23336–23345, 2015.

Capítulo 11

Desenvolvimento de scaffolds magnéticos de quitosana e ferrita de cobalto com aplicação potencial na engenharia de tecidos

Danyelle Garcia Guedes
Gabryella Garcia Guedes
Jessé de Oliveira da Silva
Helder de Lucena Pereira
Hermano de Vasconcelos Pina
Adriano Lima da Silva
Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Resumo: A integridade dos tecidos humanos, frequentemente comprometida por lesões e fraturas, apresenta desafios para as abordagens clínicas atuais que dependem de enxertos de tecido vivo. Essas técnicas enfrentam limitações como rejeição, infecções, escassez de doadores, complicações e altos custos. A medicina regenerativa surge como uma alternativa promissora, com os scaffolds se destacando como solução potencial, embora ainda em desenvolvimento. A incorporação de materiais magnéticos tem mostrado melhorar as propriedades dos scaffolds, apesar dos desafios restantes. Este estudo avaliou Scaffolds magnéticos de quitosana contendo nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) obtida por reação de combustão em escala piloto, produzidos por liofilização. Os Scaffolds foram analisados quanto à morfologia, propriedades físicas e químicas, e viabilidade como biomateriais para engenharia de tecidos. A liofilização foi eficaz, garantindo porosidade adequada e conferindo propriedades ferrimagnéticas, além de alta capacidade de absorção de fluidos. O comportamento térmico revela estabilidade do produto adequada para atuar em temperatura corporal. Os scaffolds contendo partículas magnéticas apresentam variações interessantes, exibindo um equilíbrio otimizado entre rugosidade e porosidade. A avaliação biológica revela o potencial atóxico e antimicrobiano dos scaffolds magnéticos. Essas características reforçam seu potencial para aplicações em engenharia de tecidos, especialmente devido às suas propriedades antimicrobianas e baixa citotoxicidade.

Palavras-chave: Responsividade magnética. Scaffolds. Atividade antimicrobiana. Citotoxicidade.

1. INTRODUÇÃO

Com o avanço da Engenharia de Tecidos (ET), o desenvolvimento estratégico de *scaffolds* tornou-se essencial para a regeneração e reparação de diversos tipos de tecidos, como os tecidos ósseo (Percival *et al.*, 2024), cartilaginoso (Zelinka *et al.*, 2022), muscular (Park *et al.*, 2024) e nervoso (Ghosh *et al.*, 2023). *Scaffolds* são estruturas tridimensionais que fornecem suporte físico e biológico ao crescimento e regeneração de tecidos e órgãos (Sufiyan *et al.*, 2024). *Scaffolds* 3D são projetados para: i) imitar a matriz extracelular (MEC) dos tecidos, criando um ambiente favorável à adesão, migração, diferenciação e proliferação celular; ii) fornecer suporte mecânico adequado; iii) guiar a regeneração tecidual; iv) permitir a liberação controlada de bioativos; e v) minimizar respostas inflamatórias, promovendo a formação de tecidos funcionais e integrados (De Witte *et al.*, 2018; Zhang, L. *et al.*, 2019). Diante disso, o desenvolvimento de *scaffolds* biológicos com propriedades otimizadas requer a seleção cuidadosa de materiais e métodos de fabricação. A personalização dessa tecnologia, incorporando funcionalidades avançadas como a resposta a estímulos magnéticos, não só aprimora sua versatilidade, mas também expande as possibilidades de manipulação direcionada de processos celulares, evidenciando o caráter inovador desses dispositivos para aplicações na ET (Maglio *et al.*, 2023).

Recentemente, a engenharia de tecidos tem direcionado esforços para o desenvolvimento de *scaffolds* magneticamente responsivos (Shruthi *et al.*, 2020). Nesse contexto, a incorporação de nanopartículas magnéticas aos biomateriais visa influenciar o crescimento ósseo por meio da resposta a campos magnéticos aplicados externamente (Paltanea *et al.*, 2023). Essa abordagem também abre novas possibilidades para a liberação controlada de medicamentos, proteínas e células, possibilitando intervenções terapêuticas não invasivas após a implantação do *scaffold* (Meshkini *et al.*, 2022).

Entre as matrizes orgânicas promissoras, a quitosana, um polissacarídeo derivado da quitina, tem se destacado por estar amplamente disponível e ser de fácil obtenção. A quitosana oferece diversas propriedades benéficas à ET, como alta biocompatibilidade, ação antibacteriana, biodegradabilidade e capacidade hemostática. No entanto, sua principal limitação está na baixa capacidade de suporte de carga (Harugade *et al.*, 2023). A ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) surge como uma estratégia inovadora para o desenvolvimento de *scaffolds* biomédicos, graças à sua estabilidade química, elevada dureza mecânica, isolamento elétrico, resistência ao desgaste, atoxicidade e facilidade de síntese (Barani *et al.*, 2022; Gupta *et al.*, 2023). Entre as técnicas disponíveis, a reação de combustão é destacada como uma rota eficiente para a síntese da $CoFe_2O_4$. Este método permite a formação rápida e homogênea das partículas em uma única etapa, resultando em nanopartículas uniformes com controle preciso de suas propriedades. As nanopartículas magnéticas (NPMs) de $CoFe_2O_4$, obtidas por essa abordagem, demonstram excelente dispersão, favorecendo sua integração com a matriz do *scaffold*, compatibilidade com o tecido hospedeiro e promoção da viabilidade celular (Leal *et al.*, 2018; Leal *et al.*, 2020).

Visando o crescimento/aprofundamento das pesquisas tanto cientifica e tecnológica nas áreas interligadas de Ciência e Engenharia de Materiais com a Engenharia de Tecidos, este trabalho propõe a obtenção de *scaffolds* de quitosana ativados magneticamente com ferrita de cobalto produzidos por reação de combustão em escala piloto, descrita no dispositivo de patente INPI: BR 10 2023 009515-1 (Guedes *et al.*, 2023).

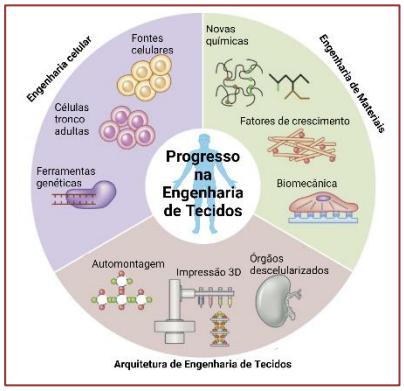
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ENGENHARIA DE TECIDOS

O termo "Engenharia de Tecidos" foi introduzido em 1988, durante um workshop da *National Science Foundation*, e recebeu uma definição oficial em 1993 como uma área científica multidisciplinar (Langer & Vacanti, 1993). A ET adota uma abordagem inovadora que integra princípios de biologia celular, medicina regenerativa, ciência dos materiais e engenharia para promover a regeneração óssea de forma eficiente (Xue *et al.*, 2022). À medida que a ET avança, espera-se o desenvolvimento de terapias cada vez mais sofisticadas e eficazes, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes (Abdian *et al.*, 2023; Akiyama *et al.*, 2023).

A ET busca promover a regeneração completa de tecidos danificados, em vez de simplesmente substituí-los, por meio da criação de novas matrizes biológicas com propriedades semelhantes às do tecido saudável original. O objetivo central da ET é criar um ambiente que favoreça a resposta celular, direcionando-a para a regeneração tecidual (Mcgovern *et al.*, 2018). No contexto da regeneração óssea, quatro pilares principais sustentam essa abordagem: biomateriais, biomoléculas, células e estímulos externos (Figura 1). A interação sinérgica desses elementos estimula a formação de novo tecido no local do implante (Lopes *et al.*, 2018). A consideração da estrutura e do comportamento natural do corpo ao longo dos processos de regeneração é essencial para o planejamento da síntese do arcabouço material que promoverá um ambiente propício à regeneração.

Figura 1 – Progresso na ET (Li *et al.*, 2019).



As estratégias da ET têm transformado o tratamento de lesões ósseas, possibilitando o desenvolvimento de *scaffolds* e biomateriais especializados que direcionam o crescimento celular e promovem a formação de novo tecido ósseo, contribuindo para a recuperação e restauração da função esquelética (Lopes *et al.*, 2018).

2.2. *SCAFFOLDS*

No corpo humano, os tecidos se organizam em estruturas tridimensionais (3D) complexas e interconectadas, essenciais para a sua funcionalidade (Thomson *et al.*, 1999). A engenharia de tecidos (ET) tem como objetivo replicar essa arquitetura 3D para favorecer a regeneração de tecidos danificados ou ausentes. Nesse contexto, os *scaffolds*

desempenham um papel fundamental, atuando como estruturas de suporte 3D que proporcionam um ambiente propício para a proliferação, diferenciação e função celular na regeneração tecidual.

A definição do *scaffold* proposta por Langer e Vacanti (1993) destaca sua função como uma estrutura tridimensional que não apenas oferece suporte físico, mas também facilita a proliferação e diferenciação celular, promovendo a regeneração e reconstrução de tecidos lesados. Assim, a pesquisa em *scaffolds* biomiméticos foca na exploração de diversos biomateriais e técnicas inovadoras de fabricação, visando replicar com precisão as características do tecido ósseo e superar as limitações dos enxertos ósseos tradicionais. Essas estratégias buscam criar *scaffolds* que imitem a arquitetura porosa, a composição química e as propriedades mecânicas do osso natural, proporcionando um ambiente favorável para a regeneração óssea eficaz e restauração da função (Maia *et al.*, 2022).

Um *scaffold* ideal na ET deve ter características intrínsecas essenciais. Primeiramente, deve ser biocompatível, ou seja, deve interagir de maneira harmoniosa com o tecido biológico, sem provocar efeitos adversos. Além disso, é necessário que o *scaffold* seja biodegradável, permitindo sua degradação gradual à medida que o novo tecido se forma. Por fim, é decisivo que o *scaffold* possua propriedades mecânicas semelhantes às do tecido ósseo, garantindo suporte estrutural e resistência adequados (Suamte *et al.*, 2023).

A colonização celular no *scaffold* é vital para o desenvolvimento de um tecido funcionalmente modificado. O *scaffold* deve oferecer um ambiente que favoreça a adesão, proliferação e diferenciação celular, além da deposição da matriz extracelular (MEC), resultando na substituição gradual pelo tecido nativo (Maia *et al.*, 2022). Portanto, as propriedades essenciais dos *scaffolds* na engenharia de tecidos são de extrema relevância.

A porosidade e a interconectividade dos poros são características essenciais, pois permitem a migração celular, o fornecimento de nutrientes e a formação de vasos sanguíneos (Mohammadi Zerankeshi *et al.*, 2022). Além disso, as propriedades mecânicas do *scaffold* devem ser cuidadosamente consideradas, garantindo que ele seja capaz de suportar as cargas mecânicas e se adaptar ao ambiente biológico em que será aplicado. Por fim, a composição do biomaterial utilizado desempenha um papel crucial na seleção da matriz adequada para a adesão, proliferação e diferenciação celular (Zhao *et al.*, 2022).

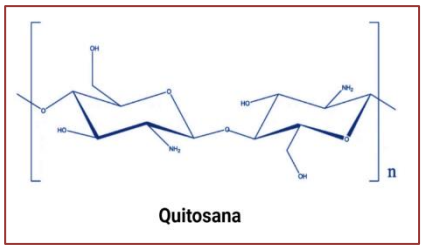
Diversos biomateriais têm sido estudados na Engenharia de Tecidos Ósseos (ETO), incluindo uma ampla gama de materiais, como polímeros naturais e sintéticos, biocerâmicas e seus compósitos (Raquel Maia *et al.*, 2019). Esses materiais são selecionados e processados utilizando diversas técnicas para replicar as propriedades e características do tecido ósseo nativo.

As técnicas de processamento mais comuns incluem manufatura aditiva (impressão 3D), eletrofiação, precipitação química, liofilização e síntese sol-gel, entre outras, para produzir *scaffolds* com as características desejadas. A escolha do biomaterial e da técnica de fabricação apropriados depende das necessidades específicas de cada aplicação, considerando fatores como as propriedades mecânicas necessárias, a porosidade desejada e a capacidade de suportar as atividades celulares (Ansari, 2019).

2.3. QUITOSANA

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante em organismos marinhos, sendo amplamente presente em crustáceos, microalgas e outros seres. A quitosana, por sua vez, é obtida a partir da quitina por meio de um processo de desacetilação. Com a melhoria de suas propriedades de solubilidade, o campo de aplicação da quitosana está em constante expansão (Su *et al.*, 2024). Como um componente dos polissacarídeos lineares, sua estrutura molecular é composta por variações na quantidade de resíduos (β1→4) ligados de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicose, também conhecida como glucosamina (GlcN), e resíduos de 2-amino-2-desoxi-D-glicose (N-acetil-glucosamina, GlcNAc) (Aranaz *et al.*, 2021) (Figura 2).

Figura 2 – Estrutura química da quitosana.



A quitosana apresenta várias propriedades promissoras, como alta biocompatibilidade, sendo estruturalmente semelhante ao glicosaminoglicano (GAG), o principal componente da matriz extracelular (MEC) encontrado na cartilagem e nos ossos. Além disso, possui osteocondutividade, biodegradabilidade, ausência de antigenicidade, atividade antimicrobiana, antioxidante, mucoadesividade, excelente capacidade de formar filmes e a habilidade de formar complexos polieletrolíticos (PECs) ao interagir espontaneamente com polímeros aniônicos (Balagangadharan *et al.*, 2017; Farzam Rad *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2024).

O interesse pela quitosana está vinculado à ampla gama de propriedades biológicas e tecnológicas que esses polímeros apresentam (Tabela 1). No entanto, essas características estão fortemente associadas às propriedades físico-químicas dos polímeros, especialmente o peso molecular e o grau de acetilação (Aranaz *et al.*, 2021).

Tabela 1 – Principais propriedades da quitosana.

Propriedade	Referências
Mucoadesividade	(Jalal *et al.*, 2023)
Anti-inflamatório	(Kim, 2018)
Antioxidante	(Muthu *et al.*, 2021)
Antimicrobiano	(Ke *et al.*, 2021)
Antifúngico	(Koc *et al.*, 2020)
Anti-hiperglicemiante	(Harugade *et al.*, 2023)
Antitumoral	(Zhang, E. *et al.*, 2019)
Cicatrização de feridas	(Jayabal *et al.*, 2023)

Quando aplicado na fabricação de *scaffolds*, a quitosana pode ser manuseada por eletrofiação, gelificação iônica, impressão 3D e recobrimento por imersão, isso permite a versatilidade da criação de estruturas porosas e interconectadas. O arcabouço formado é imprescindível para a migração celular, transporte de nutrientes e formação de vasos sanguíneos. Contudo, a quitosana apresenta alguns desafios, como sua rápida degradação e resistência mecânica limitada (Wong *et al.*, 2023).

Estudos têm demonstrado resultados promissores com o uso da quitosana em *scaffolds* para regeneração óssea, mostrando sua capacidade de promover a formação de novo tecido ósseo e vascularização (Tabela 2) (Kim *et al.*, 2023). No entanto, aprimoramentos são necessários para superar os desafios relacionados à sua degradação e resistência mecânica. Nesse sentido, pesquisas adicionais estão sendo realizadas para explorar combinações com outros biomateriais e aprimorar as propriedades da quitosana.

Tabela 2 - Diferentes formulações de *scaffolds* de quitosana na ETO (Kim *et al.*, 2023).

Composição do *Scaffold*	Efeitos	Referência
Scaffold composto de quitosana e nanopartículas de óxido de magnésio revestidas partículas de casca de ovo carregadas com *Bone Morphogenetic Protein* 2 (BMP2)	Aumento da formação de novo tecido ósseo formação de tecido ósseo, aumento do fechamento do defeito ósseo	(Huang *et al.*, 2020)
Scaffolds biomiméticos compostos feitos de quitosana e gelatina e carregados com com células de polpa dentária	Aumento da mineralização, melhora da formação do novo osso	(Bakopoulou *et al.*, 2019)
Scaffolds compostos feitos de quitosana e gelatina	Formação aprimorada de uma nova matriz extracelular	(Georgopoulou *et al.*, 2018)
Scaffold multicamada de quitosana hidrogel e manta de policaprolactona conjugado com kartogenina	Diferenciação condrogênica de células tronco, aumento da expressão de SRY-Box Transcription Factor 9 (SOX9), colágeno tipo II (COLL2) e agrecano (ACAN)	(Rajagopal *et al.*, 2020)
Scaffold de quitosana-gelatina com várias camadas	Melhoria da regeneração da cartilagem hialina regeneração da cartilagem	(Houreh *et al.*, 2021)

2.4. *SCAFFOLDS* MAGNÉTICOS

Por meio da incorporação de Nanopartículas Magnéticas (NPMs) é possível potencializar a multifuncionalidade dos *scaffolds* (Hu *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2023). Essa abordagem permite aproveitar as propriedades intrínsecas das NPMs de responderem a campos magnéticos externos, essa estratégia possibilita a manipulação e direcionamento de processos celulares e teciduais nos *scaffolds*. O uso de campos magnéticos e tecnologias de direcionamento celular está revolucionando o campo da engenharia de tecidos e biomateriais. Ao aplicar campos magnéticos, células que possuem propriedades magnéticas, ou que são acopladas a partículas magnéticas, podem ser orientadas para áreas específicas do *scaffold*, permitindo um controle mais preciso na formação e organização dos tecidos (Maglio *et al.*, 2023). Além disso, o uso de campos magnéticos externos pode estimular as células presentes nos *scaffolds*, promovendo sua diferenciação ou acelerando o processo de proliferação celular (Shao *et al.*, 2022). Os campos magnéticos podem influenciar os canais iônicos e as vias bioquímicas das células (Xia *et al.*, 2018).

Ge *et al.* (2019), incorporaram magnetita (Fe_3O_4) em quitosana e mostraram crescimento de células progenitoras mesenquimais de camundongos na superfície do *scaffolds*, destacando seu potencial no direcionamento de drogas. Salmani *et al.* (2020), incorporaram um composto de zircônio e magnetita ($Zr–Fe_3O_4$) na wollastonita. Verificou-se que com o aumento da incorporação, o magnetismo dos *scaffolds* aumentou, e a apatita foi formada na superfície dos *scaffolds* após a imersão em Fluido Corporal Simulado (*Simulated Body Fluid* – SBF). Shao *et al.* (2022), incorporaram magnetita de magnésio ($MgFe_3O_4$) em pasta de álcool polivinílico (PVA). Observou-se boa adesão celular e proliferação na superfície dos *scaffolds* magnéticos, além disso a incorporação das NPMs auxiliou na ativação da fosfatase alcalina (ALP) demonstrando potencial eficácia em aplicações de reparo ósseo. Safari *et al.* (2022), incorporaram magnetita em poliprolactona fosforilada com gelatina e observou que a presença das NPMs resultou no aumento da ALP, do gene RUNX2 – controla a diferenciação de células precursoras em osteoblastos e é essencial para o osso membranoso e endocondral (Karaplis, 2008) – e de biomarcadores osteogênicos BMP2.

Scaffolds magnéticos podem ser desenvolvidos utilizando NPMs e campos magnéticos, e ativados por esses campos para aprimorar as células através de estímulos magneto-mecânicos (Xia *et al.*, 2018). De acordo com a *Food and Drug Administration*, as nanopartículas de óxidos de ferro são as únicas adequadas para uso clínico devido à presença natural de ferro no corpo, como na ferritina, mioglobina e hemoglobina. Isso garante que as vias metabólicas existentes sejam eficientes no processamento dessas nanopartículas, que também apresentam alta suscetibilidade magnética, baixa toxicidade, estabilidade química, biodegradabilidade, fácil síntese e resistência à oxidação (Karimi *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2018; De Faria, 2020).

Outros NPMs, como ferritas de manganês (Cui *et al.*, 2018), magnésio (Bigham *et al.*, 2020), cobre (Zhang, S. *et al.*, 2020), estrôncio (Mohammadi Ziarani *et al.*, 2017) e cobalto (Farzaneh *et al.*, 2021) têm sido amplamente investigados para aplicações biomédicas devido às suas propriedades únicas, como alta capacidade de adsorção, superparamagnetismo e elevada razão superfície-volume (Mmelesi *et al.*, 2021).

2.5. FERRITA DE COBALTO

A ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) faz parte da família magnética da ferrita espinélio. Esse material magnético possui estabilidade química, saturação de magnetização (Ms) que varia entre 60 e 80 emu/g (*electromagnetic units per gram*), valores variando de 10 a 20 para permeabilidade e forte anisotropia magnética (Bigham *et al.*, 2020). Além disso, a existência de íons Co^{2+} tem efeitos terapêuticos e atividade antibacteriana (Barani *et al.*, 2022).

A ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) é o único espinélio de tipo inverso, com a fórmula $(Fe^{3+})(Co^{2+}Fe^{3+})O_4$, sendo amplamente reconhecida como um material magnético duro devido à sua elevada resistência à magnetização. Essas partículas magnéticas possuem uma característica chamada anisotropia magnetocristalina cúbica, o que significa que a facilidade de magnetização do material varia conforme a direção do campo magnético aplicado. Essa propriedade resulta do acoplamento spin-órbita (L-S) nas redes cristalinas. Essa anisotropia é importante, pois influencia a resposta do material aos campos magnéticos em diferentes orientações, sendo um dos principais motivos para a utilização da ferrita de cobalto em aplicações médicas (Ameen e Majrashi, 2023).

Nos últimos anos, as nanopartículas de ferrita espinélio têm atraído grande interesse devido ao seu potencial em diversas aplicações tecnológicas, especialmente na área biomédica. Diversos grupos de pesquisa têm investigado o uso de nanopartículas de $CoFe_2O_4$ em bioengenharia e biotecnologia, relatando resultados promissores em aplicações como nanobiossensores (Shobana, 2021), bioseparação e purificação (Kefeni e Mamba, 2020), liberação controlada de drogas (Wang *et al.*, 2018; Zhang, H. *et al.*, 2020; Ghanbari *et al.*, 2021).

Suárez *et al.* (2020), analisaram como a quitosana e a polivinilpirrolidona (PVP) influenciam nanopartículas de $Co_xFe_{3-x}O_4$, visando melhorar as propriedades de taxa de absorção específica (SAR) para uso em hipertermia. As NPMs proporcionaram biocompatibilidade e estabilidade química às amostras. Já Mazarío *et al.* (2021) investigaram a capacidade de nanopartículas de $CoFe_2O_4$ de serem internalizadas em células cancerígenas. Cintra, Cristiane C. Vital. *et al.* (2022) estudaram biomateriais contendo diferentes concentrações de nanopartículas de HAp e CoFe2O4 associadas ao antibiótico ciprofloxacina, demonstrando biocompatibilidade, degradabilidade e eficácia no combate ao crescimento de *Staphylococcus aureus* in vitro.

Uma estratégia de uso reportada na literatura atual consiste na incorporação de ferrita de cobalto em *scaffolds* biomédicos para produção de *scaffolds* magnéticos. No estudo de Reizabal *et al.* (2020), foram criados *scaffolds* magnetoativos com fibroína de seda, incorporando várias proporções de nanopartículas de $CoFe_2O_4$. A estimulação dinâmica melhorou a viabilidade celular, e a morfologia dos *scaffolds* influenciou diretamente a proliferação de pré-osteoblastos, tornando as estruturas promissoras para a engenharia de tecidos.

Farzaneh *et al.* (2021), desenvolveram *scaffolds* magnéticos contendo nanopartículas de $CoFe_2O_4$ em uma matriz de hidrogel de ácido poliacrílico. A interação entre o *scaffold* é um campo magnético externo que aumentou a atividade de fosfatase alcalina e a síntese de minerais em células, mostrando grande potencial para estimular a diferenciação osteogênica de células-tronco da polpa dentária.

Eivazzadeh-Keihan *et al.* (2023), criaram um *scaffold* multifuncional com biopolímeros de celulose e β-ciclodextrina, modificados com fibroína de seda. Nanoesferas magnéticas de $CoFe_2O_4$ dopadas com cobre ($CuCoFe_2O_4$) foram incorporadas, resultando em uma estrutura com alta hemocompatibilidade e biocompatibilidade, adequada para diversas aplicações biomédicas. A dopagem com cobre adicionou novas funcionalidades ao *scaffold*, expandindo suas possibilidades de uso.

Para aplicações *in vitro* e *in vivo*, o revestimento superficial das nanopartículas magnéticas é fundamental, pois sem ele as NPMs tendem a se aglomerar devido às suas superfícies hidrofóbicas e à grande área de superfície em relação ao volume (Krishnan, 2010). O revestimento adequado melhora a estabilidade e dispersão das NPMs em ferrofluidos, utilizando materiais como polímeros orgânicos, tensoativos, metais, óxidos inorgânicos, e moléculas bioativas. Esses estudos demonstram a versatilidade e o potencial da ferrita de cobalto em diversas aplicações biomédicas, quando combinada com diferentes matrizes poliméricas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

Nitrato férrico nonahidratado [$Fe(NO_3)_3 \bullet 9H_2O$] PA-ACS da Synth®; nitrato de cobalto(II) hexahidratado [$Co(NO_3)_2 \bullet 6H_2O$] PA-ACS da Synth®; ureia [$CO(NH_2)_2$] 99% da Synth®. Quitosano (CS) da Sigma Aldrich®, Merck Group (Darmstadt, Alemanha), com grau de desacetilação ≥ 90% e peso molecular médio entre 50-150 kDa; ácido acético glacial (PA) da Vetec® Química Fina Ltda., 99%; solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) da Neon® (Suzano, Brasil), concentração 28-30%; $CoFe_2O_4$ (CFO) fornecido pelo Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC, Campina Grande, Brasil) por meio do método de reação de combustão em escala piloto, PA ≥ 98%; e solução tampão fosfato (PBS), pH 7.4, da Sigma Aldrich®, Merck Group (Darmstadt, Alemanha). Todos os precursores foram utilizados conforme recebidos, sem processamento ou tratamento adicional.Para a presente pesquisa foi sintetizado uma única composição para obtenção da hematita. Em que a composição química do catalisador foi previamente determinada pela estequiometria teórica final desejada (Jain, 1981).

3.2. MÉTODOS

Síntese da ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) por meio de reação de combustão: Na preparação da ferrita, utilizou-se nitrato de cobalto, $Co(NO_3)_2$, como agente oxidante e ureia, $CO(NH_2)_2$, como combustível e redutor. A formulação inicial da solução foi determinada com base na valência total dos reagentes oxidantes e redutores, utilizando princípios da química de propelentes e explosivos para otimizar a relação estequiométrica entre oxidante e combustível, estabelecendo Φe = 1 [34], a fim de definir a estequiometria da fase desejada. A mistura redox formada pelos nitratos e pelo combustível foi aquecida diretamente em um recipiente de aço inoxidável acoplado a um reator cônico projetado para síntese de combustão em lotes de 200g, conforme a Equação 1, que representa a estequiometria teórica balanceada para a ferrita de cobalto.

$$2Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O + Co(NO_3)_2 \cdot 3H_2O + 4CO(NH_2)_2 \rightarrow CoFe_2O_{4\,SÓLIDO} + 4CO_{2\,GÁS} + 29H_2O_{\,GÁS} + 8N_{2\,GÁS} \quad \text{Eq. (1)}$$

Preparação dos *scaffolds*: Os *scaffolds* foram preparados por mistura de soluções. Primeiro, foram desenvolvidas soluções de quitosana (1,5% p/v) em ácido acético a 1% em um agitador mecânico Nova Ética modelo M 110-VER-4K3 (Vargem Grande do Sul, São Paulo, Brasil) por uma hora a temperatura ambiente. Em seguida, o $CoFe_2O_4$ foi adicionado na proporção adequada, e as soluções foram misturadas por mais uma hora. Essas etapas foram realizadas sob agitação constante a 346 rpm. As soluções finais foram despejadas em placas de Petri de 20 mL. As proporções de $CoFe_2O_4$/quitosana que constituem os *scaffolds* estão listadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição dos *scaffolds* com matriz de quitosano (Q) e preenchimento de $CoFe_2O_4$.

Amostra	Ferrita de Cobalto ($CoFe_2O_4$)	Quitosana (Q)
S1	0%	100%
S2	7,5%	92,5%

Os moldes foram mantidos a -48°C por 24 horas para congelamento em um ultrafreezer (AmericanLab - 490L). Os *scaffolds* congelados foram liofilizados para obter uma estrutura 3D porosa em um liofilizador de aço inoxidável L108 (AISI304-LIOTOP) a -56°C por 72 horas. Os *scaffolds* foram cuidadosamente ajustados para pH 7 usando uma atmosfera de NH_4OH (1 M) sob um domo de vidro por 24 horas. Após esse período, os *scaffolds* foram mantidos a -48°C por 4 horas e liofilizados novamente por 24 horas. A Fig. 2 ilustra o fluxograma do processamento dos *scaffolds*.

3.4. CARACTERIZAÇÕES

3.4.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A determinação das fases presentes, o grau de cristalização e o tamanho de cristalito dos produtos sintetizados por reação de combustão foram determinados utilizando um difratômetro de raios-X SHIMADZU (modelo XRD 6000, radiação K□Cu). O tamanho médio de cristalito foi calculado a partir da linha de alargamento do pico principal de raios-x por meio da deconvolução da linha de difração secundária do cério policristalino (utilizado como padrão) utilizando-se a equação de Scherrer.

3.4.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Os aspectos morfológicos dos *scaffolds* foram analisados utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Tescan VEGA3 SBH).

3.4.3. POROSIMETRIA DE MERCÚRIO

Medidas de porosimetria de mercúrio foram conduzidas utilizando um porosímetro Micromeritics Autopore IV.

3.4.4. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRIA (TG)

A análise térmica das amostras foi obtida em um equipamento da marca SHIMADZU modelo DTG 60H. A análise foi realizada utilizando 5 ± 0,5 mg das amostras, sendo acondicionadas em um suporte de alumina com razão de aquecimento de 10°C.min^{-1} numa faixa de temperatura variando do ambiente a 600°C sob uma atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min^{-1}.

3.4.5. MEDIDAS MAGNÉTICAS (MM)

As propriedades magnéticas foram avaliadas com um magnetômetro de amostra vibrante (MicroSense EZ9) com um campo magnético máximo de 13.700 G à temperatura ambiente.

3.5. CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA

3.5.1. CITOTOXICIDADE

A atividade citotóxica foi avaliada pelo método de difusão em ágar, de acordo com a norma ISO 10993-5:2009 (Iso:10993-5, 2009), utilizando células de fibroblasto de camundongo L929 (ATCC NCTC clone 929, Banco de Células do Rio de Janeiro, Brasil). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Gibco - Invitrogen Corporation, Grand Island, EUA) e incubadas a 37°C com 5% de CO_2 até atingirem 80% de confluência. Em seguida, foi realizada a trypsinização com 0,25% de tripsina (Gibco®, Life Technologies), e a contagem celular foi feita utilizando um contador automático da Interwoven - Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, EUA). Suspensões de (1,0 x 10^5 células/mL) foram distribuídas em placas de 6 poços, com (4 mL) adicionados a cada poço, e incubadas sob as mesmas condições por 24 horas. Depois, foram adicionados meio MEM concentrado 2X (Gibco® - Invitrogen Corporation, Grand Island, EUA) e solução de ágar com vermelho neutro (Sigma-Aldrich, EUA). Os *scaffolds* foram cortados em 1 cm^2 e inseridos nos poços, juntamente com o controle positivo (látex tóxico) e o controle negativo (papel filtro quantitativo). As placas foram incubadas por 24 horas e as zonas claras foram quantificadas (ISO 10993-5). A lise celular foi avaliada usando um microscópio digital invertido NIKON ECLIPSE TS100 (Minato, Tóquio, Japão).

3.5.2. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Para a atividade antimicrobiana, foram utilizadas cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA, ATCC:43300), e *Escherichia coli* (ATCC:25922).

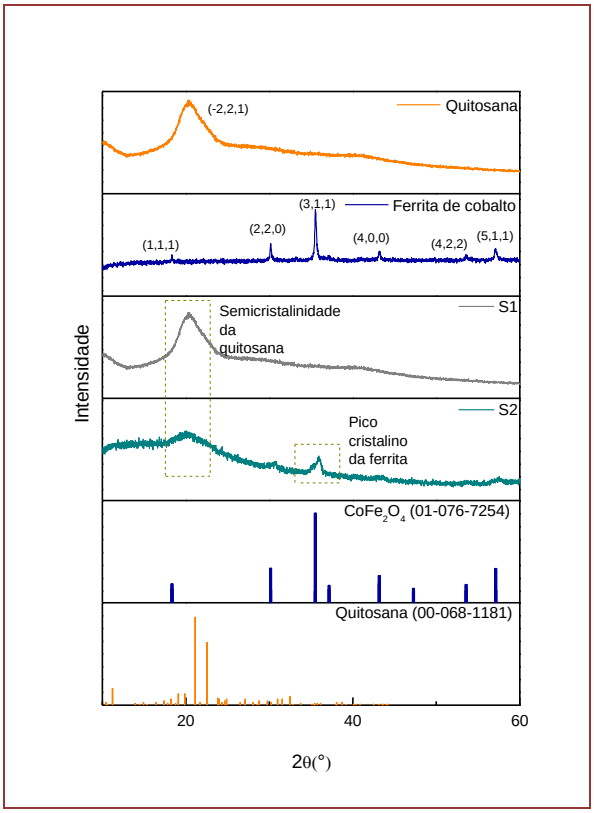
As concentrações inibitórias mínimas (MIC) foram determinadas em placas de microdiluição de 96 poços, conforme o protocolo do Clinical and Laboratory Standards Institute M07 e M27 ((Clsi), 2018). Em cada poço de placas estéreis de fundo redondo, foram adicionados 190 µL de caldo TSB, seguidos de 10% (p/v) de CFO em pó e 1,5% ou 7,5% (p/v) dos *scaffolds* S1 e S2, respectivamente. Foram realizadas diluições seriadas do CFO para obter concentrações finais de 100 x10^3 µg/mL a 390,62 µg/mL. Em seguida, 10 µL de uma suspensão bacteriana (1,5x10^8 UFC/mL) foram adicionados a cada poço, e as placas foram incubadas a 35±2°C por 24 horas. O controle positivo incluiu antibióticos (cloridrato de cefalexina a 200 µg/mL), e o controle negativo foi realizado com meio de cultura sem bactérias. Após a incubação, foram adicionados 20 µL de TCC a 2% em cada poço, seguido de uma hora de incubação adicional para a leitura visual dos resultados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X DOS SCAFFOLDS E PRECURSORES

Os padrões de difração de raios X das estruturas produzidas por liofilização são mostrados na Fig. 3.

Figura 3 - Padrões de difração da quitosana, ferrita de cobalto, amostra de referência-S1 e estrutura magnética S2.

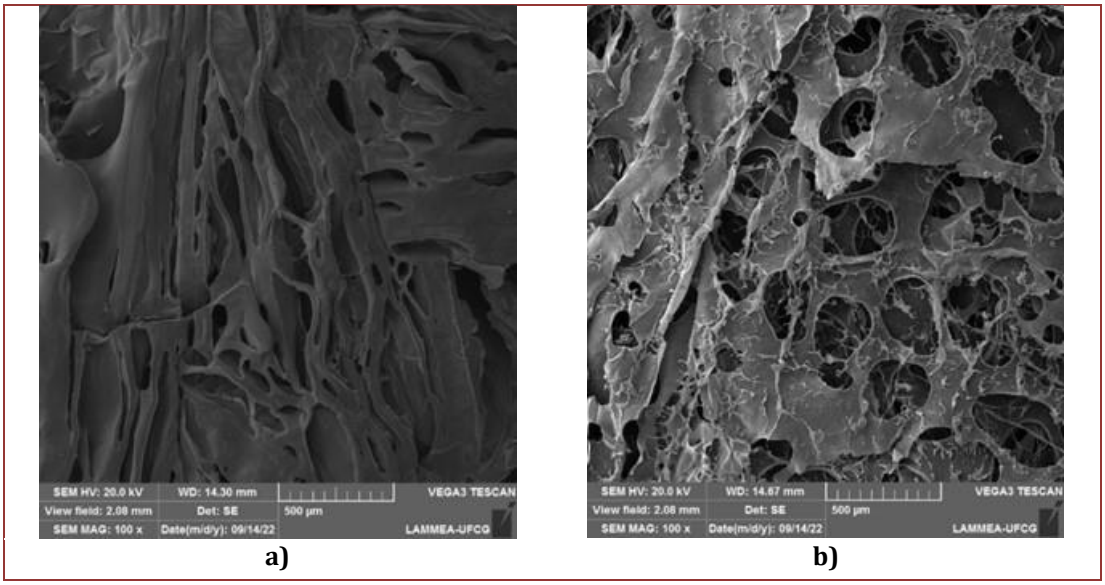


A Figura 3 apresenta o padrão de difração da ferrita de cobalto sintetizada via reação de combustão em escala piloto, revelando uma estrutura de espinélio invertido como a fase predominante, conforme o padrão cristalográfico do banco de dados JCPDS 01-076-7254. A amostra apresentou 66% de cristalinidade e tamanho de cristalito de 31 nm. Nos *scaffolds* S1 e S2, os picos em 2θ = 10,4° e 20,2° indicam a banda de semicristalinidade típica da quitosana. Em S2, observa-se picos de baixa intensidade, característicos da estrutura de espinélio invertido, nas posições 2θ de 30,1°, 35,5°, 43,1° e 56,9°, correspondendo aos planos cristalinos (220), (311), (400) e (511), respectivamente, da fase de espinélio invertido do ferrita, alinhando-se com a literatura (Cintra, Cristiane C. Vital *et al.*, 2022; Anila *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2023; Dhar *et al.*, 2024).

4.4.2. PERFIL MORFOLÓGICO DOS *SCAFFOLDS*

A morfologia dos suportes foi analisada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme ilustrado na Figura 4 (a-b).

Figura 4 - (a) MEV da amostra de referência S1, (b) *scaffold* magnético S2.



a) **b)**

Conforme Figura 4a, o *scaffold* de referência apresenta uma estrutura polimérica com características suaves e uniformes. As Figuras 4b ilustra a dispersão homogênea da ferrita de cobalto no *scaffold*, a qual influenciou a morfologia final. Houve redução e arredondamento dos poros, promovendo uma organização mais uniforme. Esse comportamento também foi observado por Tavares *et al*. (2023) ao otimizar estruturas magnéticas compostas de quitosana (CS) e poli(álcool vinílico) (PVA) com hidroxiapatita (HAp), e por (Farzaneh *et al*., 2021) ao desenvolver estruturas de polivinilpirrolidona (PVP) e $CoFe_2O_4$.

4.4.3. POROSIDADE DOS *SCAFFOLDS*

A porosidade e o diâmetro médio dos poros dos *scaffolds* S1 e S2.

Tabela 4 - Porosidade e diâmetro médio dos poros dos *scaffolds* S1, S2, S3 e S4.

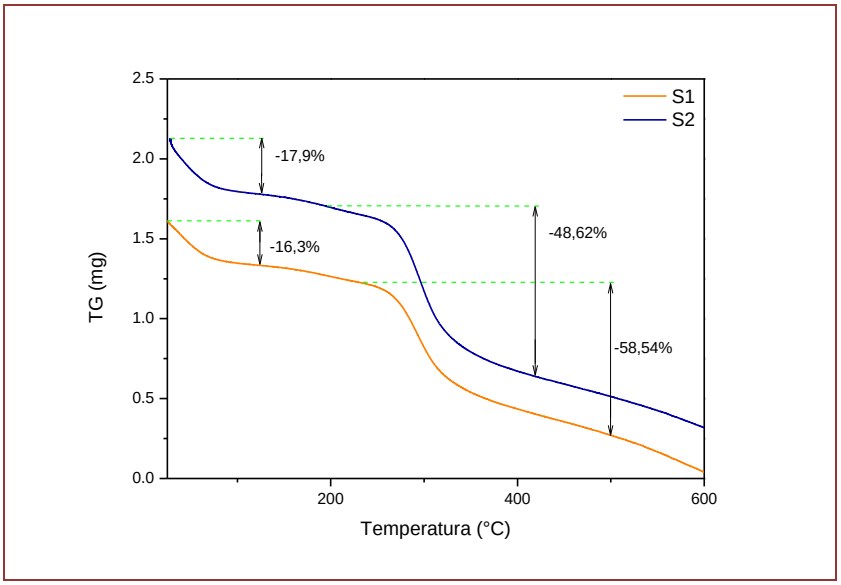
Amostra	Porosidade (%)	Diâmetro médio de poros (µm)
S1	78	104,9
S2	80	120,5

Os dados indicam uma variação significativa tanto na porosidade quanto no diâmetro médio dos poros entre os *scaffolds*. A incorporação de 7,5% de ferrita de cobalto resultou em aumento na porosidade, variando entre 78% para 80%. De acordo com Maia *et al.* (2022) alterações na porosidade são importantes, pois a presença, o tamanho e a conectividade dos poros afetam diretamente o comportamento celular, a vascularização, além da capacidade de infiltração de células e nutrientes no *scaffold*. Além disso, observou-se uma variação significativa no diâmetro dos poros. O *scaffold* S1 apresentou um diâmetro médio de 104,9 µm, enquanto a incorporação partículas magnéticas promoveu poros com 120,5 µm de diâmetro médio.

4.4.4. PERDA DE MASSA DOS *SCAFFOLDS*

A figura 5 ilustra a perda de massa dos *scaffolds* quando submetidos a variação de temperatura.

Figura 5 – Comportamento de perda de massa de *scaffolds* S1 e S2 submetidos a variação de temperatura na faixa de 25-600°C.

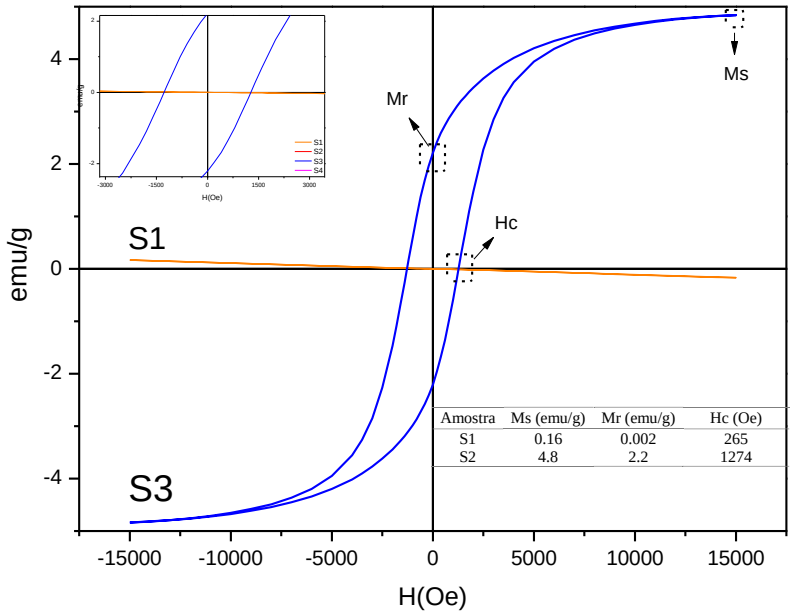


O comportamento de perda de massa dos *scaffolds* na faixa de 25 a 600°C foi caracterizado por dois estágios principais. No primeiro estágio, entre 25°C e 150°C, ocorreu uma perda de massa de 16,3 e 17,9%, respectivamente para S1 e S2, relacionada à evaporação da água adsorvida na superfície do material, em que foram eliminadas moléculas de água livres e fisicamente ligadas, sem degradação significativa da quitosana. O segundo estágio, que ocorre entre 150°C e 400°C, corresponde à decomposição térmica da quitosana, caracterizada pela quebra de ligações químicas, como a desacetilação e a degradação das cadeias poliméricas. Nessa faixa de temperatura, é registrada a maior perda de massa, de 58,54 e 48,62% respectivamente para S1 e S2, indicando a decomposição da estrutura do polímero. Tanto o *scaffold* S1 quanto o S2 apresentaram comportamentos semelhantes durante esses estágios, revelando perdas de massa consistentes. Importante ressaltar que a presença da ferrita de cobalto conferiu uma estabilidade térmica significativa aos *scaffolds*, contribuindo para a mitigação das perdas de massa durante o processo de decomposição térmica.

4.4.5. PROPRIEDADES MAGNÉTICAS DOS *SCAFFOLDS*

A Figura 6 ilustra as curvas de magnetização dos *scaffolds* S1 e S2.

Figura 6 - Curva de histerese dos *scaffolds* S1 e S2.

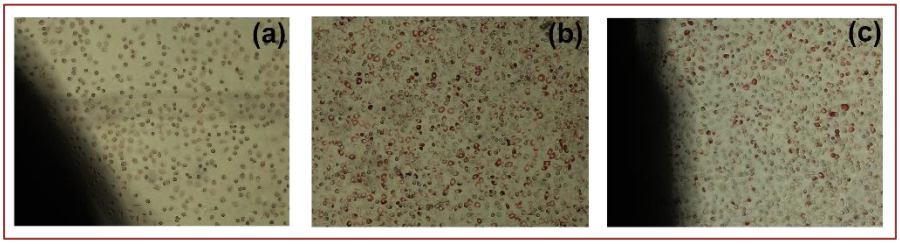


Com base nas curvas de histerese, a análise das curvas de histerese revela que o *scaffold* S2 apresenta um comportamento magnético significativamente distinto, caracterizado por uma magnetização de saturação (Ms) de 4,8 emu/g e uma remanência (Mr) de 2,2 emu/g. Esses valores indicam um perfil ferrimagnético robusto, que é consistente com o desempenho esperado das ferritas de cobalto. Além disso, o valor da coercividade (Hc) para o S2 é de 1274 Oe, indicando uma resistência considerável à desmagnetização, o que confere ao material um perfil magnético rígido. Esses resultados ressaltam o potencial do *scaffold* S2 para aplicações que exigem propriedades magnéticas aprimoradas, diferenciando-o claramente do S1, que exibe um comportamento diamagnético com valores de Ms e Mr muito mais baixos (0,16 emu/g e 0,002 emu/g, respectivamente) e uma coercividade de 265 Oe. A superioridade magnética do S2 o torna mais adequado para aplicações biomédicas que necessitam de propriedades magnéticas específicas.

4.4.6. TOXICIDADE DOS *SCAFFOLDS*

A Figura 7 apresenta o comportamento citotóxico dos *scaffolds*.

Figura 7- Imagens de microscópio digital invertido com ampliação de 100x da linha celular L929 nas áreas de descoloração ao redor dos *scaffolds* no teste de difusão em ágar: (a) controle positivo (látex tóxico), (b) controle negativo (papel de filtro quantitativo), (c) S2.



Na avaliação da citotoxicidade dos *scaffolds*, em comparação ao controle positivo e negativo, o *scaffold* S2 apresentou comportamento semelhante ao controle negativo, não exibindo qualquer zona de descoloração (0,0 cm) e sendo classificado com grau de citotoxicidade 0, o que indica que não é tóxico. Em contraste, o controle positivo apresentou uma descoloração significativa de 0,888 cm, com um grau de citotoxicidade 4, demonstrando alta toxicidade.

4.4.7. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A Tabela 5 detalha os valores de CIM (Concentração Inibitória Mínima) e CBM (Concentração Bactericida Mínima) das partículas de ferrita de cobalto sintetizadas por reação de combustão, bem como dos *scaffolds* S1 e S2.

Tabela 5 - Valores de CIM e CBM, os valores indicados representam a (média) obtida em triplicado contra as bactérias *S. aureus MRSA* e *E. coli*.

Amostras	Microrganismos CIM/CBM (μg.mL^{-1})			
	S. aureus MRSA ATCC (43300)		*E. coli* ATCC (25922)	
	CIM	CBM	CIM	CBM
Ferrita de cobalto	6.250	-	12.500	12.500
S1	7.500	-	7.500	7.500
S2	37.500	-	37.500	37.500
Cefalexina	-	-	3.125	50.000

Os resultados apresentados na Tabela 5 indicam a eficácia antimicrobiana das partículas de ferrita de cobalto e dos *scaffolds* S1 e S2 contra *Staphylococcus aureus MRSA* e *Escherichia coli*. As partículas de CFO exibiram uma atividade antimicrobiana significativa, com um MIC de 6,25 μg/mL contra *S. aureus MRSA*. Considerando que a cepa de *S. aureus* é resistente a antibióticos comuns, como a meticilina, isso destaca o potencial das partículas de ferrita de cobalto como agentes antimicrobianos eficazes para combater infecções bacterianas resistentes. Para *E. coli*, o MIC foi de 12,5 μg/mL, indicando eficácia moderada.

Os resultados apresentados na Tabela 5 indicam a eficácia antimicrobiana das partículas de ferrita de cobalto e dos *scaffolds* S1 e S3 contra *Staphylococcus aureus MRSA* e *Escherichia coli*. As partículas de CFO exibiram uma atividade antimicrobiana

significativa, com um MIC de 6,25 µg/mL contra *S. aureus MRSA*. Considerando que a cepa de *S. aureus* é resistente a antibióticos comuns, como a meticilina, isso destaca o potencial das partículas de ferrita de cobalto como agentes antimicrobianos eficazes para combater infecções bacterianas resistentes. Para *E. coli*, o MIC foi de 12,5 µg/mL, indicando eficácia moderada.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A adição de nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) aos *scaffolds* de quitosana conferiu características ferrimagnéticas que podem ser vantajosas em aplicações biomédicas.
- O processo de liofilização foi eficaz em garantir a porosidade adequada e a alta capacidade de absorção de fluidos, essenciais para a funcionalidade dos *scaffolds* em ambientes biológicos.
- As propriedades antimicrobianas e a baixa citotoxicidade dos *scaffolds* magnéticos reforçam seu potencial para aplicações na engenharia de tecidos, oferecendo uma solução eficaz para o tratamento de lesões e fraturas.

REFERÊNCIAS

[1] (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibiçity Tests for Bacteria that grow aerobically.** 2018.

[2] ABDIAN, N.; ETMINANFAR, M.; SHEYKHOLESLAMI, S. O. R.; HAMISHEHKAR, H.; KHALIL-ALLAFI, J. Preparation and characterization of chitosan/hydroxyapatite scaffolds containing mesoporous SiO2-HA for drug delivery applications. **Materials Chemistry and Physics,** v. 301, p. 127672, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.127672

[3] AKIYAMA, N.; PATEL, K. D.; JANG, E. J.; SHANNON, M. R.; PATEL, R.; PATEL, M.; PERRIMAN, A. W. Tubular nanomaterials for bone tissue engineering. **Journal of Materials Chemistry B**, 2023. doi: 10.1039/D3TB00905J

[4] AMEEN, F.; MAJRASHI, N. Recent trends in the use of cobalt ferrite nanoparticles as an antimicrobial agent for disability infections: A review. **Inorganic Chemistry Communications,** v. 156, p. 111187, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111187

[5] ANILA, I.; LAHIRI, B. B.; JOHN, S. P.; JACOB MATHEW, M.; PHILIP, J. Preparation, physicochemical characterization, and AC induction heating properties of colloidal aggregates of ferrimagnetic cobalt ferrite nanoparticles coated with a bio-compatible polymer. **Ceramics International,** v. 49, n. 10, p. 15183-15199, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.01.101

[6] ANSARI, M. Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. **Progress in Biomaterials,** v. 8, n. 4, p. 223-237, 2019. doi: https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z

[7] ARANAZ, I.; ALCÁNTARA, A. R.; CIVERA, M. C.; ARIAS, C.; ELORZA, B.; HERAS CABALLERO, A.; ACOSTA, N. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. **Polymers (Basel),** v. 13, n. 19, 2021. doi: 10.3390/polym13193256

[8] BAKOPOULOU, A.; GEORGOPOULOU, A.; GRIVAS, I.; BEKIARI, C.; PRYMAK, O.; LOZA, K.; EPPLE, M.; PAPADOPOULOS, G. C.; KOIDIS, P.; CHATZINIKOLAIDOU, M. Dental pulp stem cells in chitosan/gelatin scaffolds for enhanced orofacial bone regeneration. **Dent Mater,** v. 35, n. 2, p. 310-327, 2019. doi: 10.1016/j.dental.2018.11.025

[9] BALAGANGADHARAN, K.; DHIVYA, S.; SELVAMURUGAN, N. Chitosan based nanofibers in bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 104, p. 1372-1382, 2017. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.046

[10] BARANI, M.; RAHDAR, A.; MUKHTAR, M.; RAZZAQ, S.; QINDEEL, M.; HOSSEINI OLAM, S. A.; PAIVA-SANTOS, A. C.; AJALLI, N.; SARGAZI, S.; BALAKRISHNAN, D.; GUPTA, A. K.; PANDEY, S. Recent application of cobalt ferrite nanoparticles as a theranostic agent. **Materials Today Chemistry,** v. 26, p. 101131, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2022.101131

[11] BIGHAM, A.; AGHAJANIAN, A. H.; SAUDI, A.; RAFIENIA, M. Hierarchical porous Mg2SiO4-CoFe2O4 nanomagnetic scaffold for bone cancer therapy and regeneration: Surface modification and in vitro studies. **Materials Science and Engineering C,** v. 109, 2020. doi: 10.1016/j.msec.2019.110579

[12] CINTRA, C. C. V.; FERREIRA-ERMITA, D. A. C.; LOURES, F. H.; ARAÚJO, P. M. A. G.; RIBEIRO, I. M.; ARAÚJO, F. R.; VALENTE, F. L.; REIS, E. C. C.; COSTA, A. C. F. M.; BICALHO, S. M. C. M.; BORGES, A. P. B. In vitro characterization of hydroxyapatite and cobalt ferrite nanoparticles compounds and their biocompatibility in vivo. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine,** v. 33, n. 2, p. 21, 2022. doi: https://doi.org/10.1007/s10856-022-06640-z

[13] CINTRA, C. C. V.; FERREIRA-ERMITA, D. A. C.; LOURES, F. H.; ARAÚJO, P. M. A. G.; RIBEIRO, I. M.; ARAÚJO, F. R.; VALENTE, F. L.; REIS, E. C. C.; COSTA, A. C. F. M.; BICALHO, S. M. C. M.; BORGES, A. P. B. In vitro characterization of hydroxyapatite and cobalt ferrite nanoparticles compounds and their biocompatibility in vivo. **Journal of Materials Science. Materials in Medicine,** v. 33, n. 2, p. 21, 2022. doi: https://doi.org/10.1007/s10856-022-06640-z

[14] CUI, S.; WANG, X.; ZHANG, X.; XIA, W.; TANG, X.; LIN, B.; WU, Q.; ZHANG, X.; SHEN, X. Preparation of magnetic MnFe2O4-Cellulose aerogel composite and its kinetics and thermodynamics of Cu(II) adsorption. **Cellulose,** v. 25, n. 1, p. 735-751, 2018. doi: 10.1007/s10570-017-1598-x

[15] DE FARIA, M. L. **Magnetic Scaffolds for Bone Regeneration**. 2020. 67. (Master's degree). Metallurgical and Materials Engineering, Faculty of Engineering of the University of Porto

[16] DE WITTE, T. M.; FRATILA-APACHITEI, L. E.; ZADPOOR, A. A.; PEPPAS, N. A. Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. **Regenerative Materials**, n. 2056-3418 (Print), p. 197-211, 2018. doi: 10.1093/rb/rby013

[17] DHAR, D.; GHOSH, S.; MUKHERJEE, S.; DHARA, S.; CHATTERJEE, J.; DAS, S. Assessment of chitosan-coated zinc cobalt ferrite nanoparticle as a multifunctional theranostic platform facilitating pH-sensitive drug delivery and OCT image contrast enhancement. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 654, p. 123999, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.123999

[18] EIVAZZADEH-KEIHAN, R.; GANJALI, F.; ALIABADI, H. A. M.; MALEKI, A.; POURI, S.; MAHDAVI, M.; SHALAN, A. E.; LANCEROS-MÉNDEZ, S. Synthesis and characterization of cellulose, β-cyclodextrin, silk fibroin-based hydrogel containing copper-doped cobalt ferrite nanospheres and exploration of its biocompatibility. **Journal of Nanostructure in Chemistry,** v. 13, n. 1, p. 103-113, 2023. doi: 10.1007/s40097-022-00481-6

[19] FARZAM RAD, V.; PANAHI, M.; JAMALI, R.; DARUDI, A.; MORADI, A. R. Non-invasive in situ monitoring of bone scaffold activity by speckle pattern analysis. **Biomed Opt Express,** v. 11, n. 11, p. 6324-6336, 2020. doi: https://doi.org/10.1364/boe.401740

[20] FARZANEH, S.; HOSSEINZADEH, S.; SAMANIPOUR, R.; HATAMIE, S.; RANJBARI, J.; KHOJASTEH, A. Fabrication and characterization of cobalt ferrite magnetic hydrogel combined with static magnetic field as a potential bio-composite for bone tissue engineering. **Journal of Drug Delivery Science and Technology,** v. 64, p. 102525, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102525

[21] GE; ZHAI, M.; ZHANG, Y.; BIAN, J.; WU, J. Biocompatible Fe3O4/chitosan scaffolds with high magnetism. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 128, p. 406-413, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.077

[22] GEORGOPOULOU, A.; PAPADOGIANNIS, F.; BATSALI, A.; MARAKIS, J.; ALPANTAKI, K.; ELIOPOULOS, A. G.; PONTIKOGLOU, C.; CHATZINIKOLAIDOU, M. Chitosan/gelatin scaffolds support bone regeneration. **J Mater Sci Mater Med,** v. 29, n. 5, p. 59, 2018. doi: 10.1007/s10856-018-6064-2

[23] GHANBARI, M.; DAVAR, F.; SHALAN, A. E. Effect of rosemary extract on the microstructure, phase evolution, and magnetic behavior of cobalt ferrite nanoparticles and its application on anti-cancer drug delivery. **Ceramics International,** v. 47, n. 7, Part A, p. 9409-9417, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.12.073

[24] GHOSH, S.; DHIMAN, M.; GUPTA, S.; ROY, P.; LAHIRI, D. Electro-conductive chitosan/graphene bio-nanocomposite scaffold for tissue engineering of the central nervous system. **Biomaterials Advanced,** v. 154, p. 213596, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213596

[25] GUEDES, D. G.; COSTA, A. C. F. D. M.; BARBOSA, R. C.; FOOK, M. V. L.; SILVA, A. L.; VASCONCELOS, H. P., Brazil (2023).

[26] GUO, Y.; QIAO, D.; ZHAO, S.; ZHANG, B.; XIE, F. Advanced functional chitosan-based nanocomposite materials for performance-demanding applications. **Progress in Polymer Science,** v. 157, p. 101872, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2024.101872

[27] GUPTA, A.; ANJALI; SAHNI, M. Structural and magnetic properties of cobalt ferrite nano-particles. **Materials Today: Proceedings**, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.09.121

[28] HARUGADE, A.; SHERJE, A. P.; PETHE, A. Chitosan: A review on properties, biological activities and recent progress in biomedical applications. **Reactive and Functional Polymers,** v. 191, p. 105634, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105634

[29] HOUREH, A. B.; MASAELI, E.; NASR-ESFAHANI, M. H. J. I. J. O. B. M. Chitosan/polycaprolactone multilayer hydrogel: A sustained Kartogenin delivery model for cartilage regeneration. 2021. doi:

[30] HU, X.; LIU, W.; SUN, L.; XU, S.; WANG, T.; MENG, J.; WEN, T.; LIU, Q.; LIU, J.; XU, H. Magnetic Nanofibrous Scaffolds Accelerate the Regeneration of Muscle Tissue in Combination with Extra Magnetic Fields. **Int J Mol Sci,** v. 23, n. 8, 2022. doi: 10.3390/ijms23084440

[31] HUANG, Y.; JI, Y.; KANG, Z.; LI, F.; GE, S.; YANG, D.-P.; RUAN, J.; FAN, X. J. C. E. J. Integrating eggshell-derived CaCO3/MgO nanocomposites and chitosan into a biomimetic scaffold for bone regeneration. v. 395, p. 125098, 2020. doi:

[32] ISO:10993-5. **Biological evaluation of medical devices** Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization. ISO 10993-5:2009 2009.

[33] JALAL, R. R.; WAYS, T. M. M.; ABU ELELLA, M. H.; HASSAN, D. A.; KHUTORYANSKIY, V. V. Preparation of mucoadhesive methacrylated chitosan nanoparticles for delivery of ciprofloxacin. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 242, p. 124980, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124980

[34] JAYABAL, P.; KANNAN SAMPATHKUMAR, V.; VINOTHKUMAR, A.; MATHAPATI, S.; PANNERSELVAM, B.; ACHIRAMAN, S.; VENKATASUBBU, G. D. Fabrication of a Chitosan-Based Wound Dressing Patch for Enhanced Antimicrobial, Hemostatic, and Wound Healing Application. **ACS Applied Bio Materials,** v. 6, n. 2, p. 615-627, 2023. doi: 10.1021/acsabm.2c00903

[35] KARAPLIS, A. C. Chapter 3 - Embryonic Development of Bone and Regulation of Intramembranous and Endochondral Bone Formation. In: BILEZIKIAN, J. P.;RAISZ, L. G.*, et al* (Ed.). **Principles of Bone Biology (Third Edition)**. San Diego: Academic Press, 2008. p. 53-84. ISBN 978-0-12-373884-4.

[36] KARIMI, Z.; KARIMI, L.; SHOKROLLAHI, H. Nano-magnetic particles used in biomedicine: core and coating materials. **Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications,** v. 33, n. 5, p. 2465-75, 2013. doi: 10.1016/j.msec.2013.01.045

[37] KE, C. L.; DENG, F. S.; CHUANG, C. Y.; LIN, C. H. Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. **Polymers (Basel),** v. 13, n. 6, 2021. doi: 10.3390/polym13060904

[38] KEFENI, K. K.; MAMBA, B. B. Photocatalytic application of spinel ferrite nanoparticles and nanocomposites in wastewater treatment: Review. **Sustainable Materials and Technologies,** v. 23, p. e00140, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.susmat.2019.e00140

[39] KIM, S. Competitive Biological Activities of Chitosan and Its Derivatives: Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer, and Anti-Inflammatory Activities. **International Journal of Polymer Science,** v. 2018, p. 1708172, 2018. doi: 10.1155/2018/1708172

[40] KIM, Y.; ZHARKINBEKOV, Z.; RAZIYEVA, K.; TABYLDIYEVA, L.; BERIKOVA, K.; ZHUMAGUL, D.; TEMIRKHANOVA, K.; SAPAROV, A. Chitosan-Based Biomaterials for Tissue Regeneration. **Pharmaceutics,** v. 15, n. 3, 2023. doi: 10.3390/pharmaceutics15030807

[41] KOC, B.; AKYUZ, L.; CAKMAK, Y. S.; SARGIN, I.; SALABERRIA, A. M.; LABIDI, J.; ILK, S.; CEKIC, F. O.; AKATA, I.; KAYA, M. Production and characterization of chitosan-fungal extract films. **Food Bioscience,** v. 35, p. 100545, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100545

[42] KRISHNAN, K. M. Biomedical nanomagnetics: A spin through possibilities in imaging, diagnostics, and therapy. **IEEE Transactions on Magnetics,** v. 46, n. 7, p. 2523-2558, 2010. doi: 10.1109/TMAG.2010.2046907

[43] LANGER, R.; VACANTI, J. P. Tissue Engineering. **Science,** v. 260, n. 5110, p. 920-926, 1993. doi: 10.1126/science.8493529

[44] LEAL, E.; BASÍLIO, S. T.; DANTAS, J.; RICHA, P.; LIMA, R. D. C.; KIMINAMI, R. H. G. A.; COSTA, A. C. F. D. M. Structural, textural, morphological, magnetic and electromagnetic study of Cu-doped NiZn ferrite synthesized by pilot-scale combustion for RAM application. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 13, n. 11, p. 8100-8118, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.09.041

[45] LEAL, E.; DANTAS, J.; SANTOS, P. T. A. D.; BICALHO, S. M. D. C. M.; KIMINAMI, R. H. G. A.; DA SILVA, M. R.; COSTA, A. C. F. D. M. Effect of the surface treatment on the structural, morphological, magnetic and biological properties of MFe 2 O 4 iron spinels (M = Cu, Ni, Co, Mn and Fe). **Applied Surface Science,** v. 455, p. 635-645, 2018. doi: 10.1016/j.apsusc.2018.06.025

[46] LI, L.; LU, H.; ZHAO, Y.; LUO, J.; YANG, L.; LIU, W.; HE, Q. Functionalized cell-free scaffolds for bone defect repair inspired by self-healing of bone fractures: A review and new perspectives. **Materials Science & Engineering C Materials for Biological Applications,** v. 98, p. 1241-1251, 2019. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.075

[47] LI, Y.; YE, D.; LI, M.; MA, M.; GU, N. Adaptive Materials Based on Iron Oxide Nanoparticles for Bone Regeneration. **ChemPhysChem,** v. 19, n. 16, p. 1965-1979, 2018. doi: https://doi.org/10.1002/cphc.201701294

[48] LOPES, D.; MARTINS-CRUZ, C.; OLIVEIRA, M. B.; MANO, J. F. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. **Biomaterials,** v. 185, p. 240-275, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.09.028

[49] MAGLIO, M.; SARTORI, M.; GAMBARDELLA, A.; SHELYAKOVA, T.; DEDIU, V. A.; SANTIN, M.; PIÑEIRO, Y.; LÓPEZ, M. B.; RIVAS, J.; TAMPIERI, A.; SPRIO, S.; MARTINI, L.; GATTI, A.; RUSSO, A.; GIAVARESI, G.; FINI, M. **Bone Regeneration Guided by a Magnetized Scaffold in an Ovine Defect Model**. International Journal of Molecular Science. 24 2023.

[50] MAIA, F. R.; BASTOS, A. R.; OLIVEIRA, J. M.; CORRELO, V. M.; REIS, R. L. Recent approaches towards bone tissue engineering. **Bone,** v. 154, p. 116256, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116256

[51] MAZARÍO, E.; CAÑETE, M.; HERRANZ, F.; SÁNCHEZ-MARCOS, J.; DE LA FUENTE, J. M.; HERRASTI, P.; MENÉNDEZ, N. Highly Efficient T2 Cobalt Ferrite Nanoparticles Vectorized for Internalization in Cancer Cells. **Pharmaceuticals (Basel),** v. 14, n. 2, 2021. doi: https://doi.org/10.3390/ph14020124

[52] MCGOVERN, J. A.; GRIFFIN, M.; HUTMACHER, D. W. Animal models for bone tissue engineering and modelling disease. **Disease Models & Mechanisms,** v. 11, n. 4, 2018. doi: https://doi.org/10.1242/dmm.033084

[53] MESHKINI, A.; SISTANIPOUR, E.; IZADI, A. Mg.ATP-decorated ultrafine magnetic nanofibers: A bone scaffold with high osteogenic and antibacterial properties in the presence of an electromagnetic field. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 210, p. 112256, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112256

[54] MMELESI, O. K.; MASUNGA, N.; KUVAREGA, A.; NKAMBULE, T. T. I.; MAMBA, B. B.; KEFENI, K. K. Cobalt ferrite nanoparticles and nanocomposites: Photocatalytic, antimicrobial activity and toxicity in water treatment. **Materials Science in Semiconductor Processing,** v. 123, p. 105523, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.mssp.2020.105523

[55] MOHAMMADI ZERANKESHI, M.; MOFAKHAMI, S.; SALAHINEJAD, E. 3D porous HA/TCP composite scaffolds for bone tissue engineering. **Ceramics International,** v. 48, n. 16, p. 22647-22663, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.05.103

[56] MOHAMMADI ZIARANI, G.; KAZEMI ASL, Z.; GHOLAMZADEH, P.; BADIEI, A.; AFSHAR, M. The use of SrFe12O19 magnetic nanoparticles as an efficient catalyst in the modified Niementowski reaction. **Applied Organometallic Chemistry,** v. 31, n. 12, 2017. doi: 10.1002/aoc.3830

[57] MUTHU, M.; GOPAL, J.; CHUN, S.; DEVADOSS, A. J.; HASAN, N.; SIVANESAN, I. **Crustacean Waste-Derived Chitosan: Antioxidant Properties and Future Perspective**. Antioxidants. 10 2021.

[58] PALTANEA, G.; MANESCU, V.; ANTONIAC, I.; ANTONIAC, A.; NEMOIANU, I. V.; ROBU, A.; DURA, H. **A Review of Biomimetic and Biodegradable Magnetic Scaffolds for Bone Tissue Engineering and Oncology**. International Journal of Molecular Science. 24 2023.

[59] PARK, S.; RAHAMAN, K. A.; KIM, Y. C.; JEON, H.; HAN, H. S. Fostering tissue engineering and regenerative medicine to treat musculoskeletal disorders in bone and muscle. **Bioactive Matererials,** v. 40, p. 345-365, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.06.022

[60] PERCIVAL, K. M.; PAUL, V.; HUSSEINI, G. A. Recent Advancements in Bone Tissue Engineering: Integrating Smart Scaffold Technologies and Bio-Responsive Systems for Enhanced Regeneration. **International Journal of Molecular Science,** v. 25, n. 11, 2024. doi: https://doi.org/10.3390/ijms25116012

[61] RAJAGOPAL, K.; RAMESH, S.; WALTER, N. M.; ARORA, A.; KATTI, D. S.; MADHURI, V. In vivo cartilage regeneration in a multi-layered articular cartilage architecture mimicking scaffold. **Bone Joint Res,** v. 9, n. 9, p. 601-612, 2020. doi: 10.1302/2046-3758.99.Bjr-2019-0210.R2

[62] RAQUEL MAIA, F.; CORRELO, V. M.; OLIVEIRA, J. M.; REIS, R. L. Chapter 32 - Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. In: ATALA, A.;LANZA, R., *et al* (Ed.). **Principles of Regenerative Medicine (Third Edition)**. Boston: Academic Press, 2019. p. 535-558. ISBN 978-0-12-809880-6.

[63] REIZABAL, A.; BRITO-PEREIRA, R.; FERNANDES, M. M.; CASTRO, N.; CORREIA, V.; RIBEIRO, C.; COSTA, C. M.; PEREZ, L.; VILAS, J. L.; LANCEROS-MÉNDEZ, S. Silk fibroin magnetoactive nanocomposite films and membranes for dynamic bone tissue engineering strategies. **Materialia,** v. 12, p. 100709, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100709

[64] SAFARI, B.; AGHANEJAD, A.; KADKHODA, J.; AGHAZADE, M.; ROSHANGAR, L.; DAVARAN, S. Biofunctional phosphorylated magnetic scaffold for bone tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 211, p. 112284, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112284

[65] SALMANI, M. M.; HASHEMIAN, M.; KHANDAN, A. Therapeutic effect of magnetic nanoparticles on calcium silicate bioceramic in alternating field for biomedical application. **Ceramics International,** v. 46, n. 17, p. 27299-27307, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.07.215

[66] SHAO, H.; WU, J.; WANG, S.; DUAN, J.; ZHANG, Y.; PENG, J.; LIN, T. 3D gel-printing of porous MgFe2O4 magnetic scaffolds for bone tissue engineering. **Ceramics International,** v. 48, n. 5, p. 7183-7191, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.11.279

[67] SHOBANA, M. K. Nanoferrites in biosensors – A review. **Materials Science and Engineering: B,** v. 272, p. 115344, 2021. doi: https://doi.org/10.1016/j.mseb.2021.115344

[68] SHRUTHI, P. A.; PUSHPADASS, H. A.; FRANKLIN, M. E.; BATTULA, S. N.; NAIK, N. L. **LWT,** v. 134, n. null, p. 110127, 2020. doi:

[69] SU, C.; JIANG, C.; LIN, J.; LIU, J.; ZHAN, H.; CHE, S.; CHEN, X.; FENG, C. Optimization of preparation conditions for β-chitosan derived from diatom biomanufacturing using response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 279, p. 135233, 2024. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135233

[70] SUAMTE, L.; TIRKEY, A.; BARMAN, J.; JAYASEKHAR BABU, P. Various manufacturing methods and ideal properties of scaffolds for tissue engineering applications. **Smart Materials in Manufacturing,** v. 1, p. 100011, 2023. doi: https://doi.org/10.1016/j.smmf.2022.100011

[71] SUÁREZ, J.; DABOIN, V.; GONZÁLEZ, G.; BRICEÑO, S. Chitosan-polyvinylpyrrolidone CoxFe3−xO4 (0.25 ≤ x ≤ 1) nanoparticles for hyperthermia applications. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 164, p. 3403-3410, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.043

[72] SUFIYAN, M.; KUSHWAHA, P.; AHMAD, M.; MANDAL, P.; VISHWAKARMA, K. K. Scaffold-Mediated Drug Delivery for Enhanced Wound Healing: A Review. **American Association of Pharmaceutical Scientists,** v. 25, n. 5, p. 137, 2024. doi: https://doi.org/10.1208/s12249-024-02855-1

[73] TAVARES, F. J. T. M.; SOARES, P. I. P.; SILVA, J. C.; BORGES, J. P. Preparation and In Vitro Characterization of Magnetic CS/PVA/HA/pSPIONs Scaffolds for Magnetic Hyperthermia and Bone Regeneration. **International Journal of Molecular Science,** v. 24, n. 2, 2023. doi: https://doi.org/10.3390/ijms24021128

[74] THOMSON, R. C.; MIKOS, A. G.; BEAHM, E.; LEMON, J. C.; SATTERFIELD, W. C.; AUFDEMORTE, T. B.; MILLER, M. J. Guided tissue fabrication from periosteum using preformed biodegradable polymer scaffolds. **Biomaterials,** v. 20, n. 21, p. 2007-2018, 1999. doi: https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00103-9

[75] WANG, G.; ZHOU, F.; LI, X.; LI, J.; MA, Y.; MU, J.; ZHANG, Z.; CHE, H.; ZHANG, X. Controlled synthesis of L-cysteine coated cobalt ferrite nanoparticles for drug delivery. **Ceramics International,** v. 44, n. 12, p. 13588-13594, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.04.193

[76] WONG, S. K.; YEE, M. M. F.; CHIN, K. Y.; IMA-NIRWANA, S. A Review of the Application of Natural and Synthetic Scaffolds in Bone Regeneration. **Journal of Functional Biomaterials,** v. 14, n. 5, 2023. doi: 10.3390/jfb14050286

[77] XIA, Y.; SUN, J.; ZHAO, L.; ZHANG, F.; LIANG, X.-J.; GUO, Y.; WEIR, M. D.; REYNOLDS, M. A.; GU, N.; XU, H. H. K. Magnetic field and nano-scaffolds with stem cells to enhance bone regeneration. **Biomaterials,** v. 183, p. 151-170, 2018. doi: https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.08.040

[78] XUE, N.; DING, X.; HUANG, R.; JIANG, R.; HUANG, H.; PAN, X.; MIN, W.; CHEN, J.; DUAN, J.-A.; LIU, P.; WANG, Y. **Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects**. Pharmaceuticals. 15 2022.

[79] YAN, Z.; SUN, T.; TAN, W.; WANG, Z.; YAN, J.; MIAO, J.; WU, X.; FENG, P.; DENG, Y. Magnetic Field Boosts the Transmembrane Transport Efficiency of Magnesium Ions from PLLA Bone Scaffold. **Small,** v. n/a, n. n/a, p. 2301426, 2023. doi: https://doi.org/10.1002/smll.202301426

[80] ZELINKA, A.; ROELOFS, A. J.; KANDEL, R. A.; DE BARI, C. Cellular therapy and tissue engineering for cartilage repair. **Osteoarthritis Cartilage,** v. 30, n. 12, p. 1547-1560, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.joca.2022.07.012

[81] ZHANG, E.; XING, R.; LIU, S.; QIN, Y.; LI, K.; LI, P. Advances in chitosan-based nanoparticles for oncotherapy. **Carbohydrate Polymers,** v. 222, p. 115004, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115004

[82] ZHANG, H.; WANG, J.; ZENG, Y.; WANG, G.; HAN, S.; YANG, Z.; LI, B.; WANG, X.; GAO, J.; ZHENG, L.; LIU, X.; HUO, Z.; YU, R. Leucine-coated cobalt ferrite nanoparticles: Synthesis, characterization and potential biomedical applications for drug delivery. **Physics Letters A,** v. 384, n. 24, p. 126600, 2020. doi: https://doi.org/10.1016/j.physleta.2020.126600

[83] ZHANG, L.; YANG, G.; JOHNSON, B. N.; JIA, X. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. **Acta Biomaterialia,** v. 84, p. 16-33, 2019. doi: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.11.039

[84] ZHANG, S.; XU, Y.; ZHAO, D.; CHEN, W.; LI, H.; HOU, C. Preparation of magnetic CuFe2O4@Ag@ZIF-8 nanocomposites with highly catalytic activity based on cellulose nanocrystals. **Molecules,** v. 25, n. 1, 2020. doi: 10.3390/molecules25010124

[85] ZHAO, C.; LIU, W.; ZHU, M.; WU, C.; ZHU, Y. Bioceramic-based scaffolds with antibacterial function for bone tissue engineering: A review. **Bioactive Materials,** v. 18, p. 383-398, 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.02.010

[86] ZHOU, K.; AZAMAN, F. A.; CAO, Z.; BRENNAN FOURNET, M.; DEVINE, D. M. Bone Tissue Engineering Scaffold Optimisation through Modification of Chitosan/Ceramic Composition. **Macromol,** v. 3, n. 2, p. 326-342, 2023. doi: https://doi.org/10.3390/macromol3020021

www.poisson.com.br
contato@poisson.com.br

@editorapoisson

https://www.facebook.com/editorapoisson